Le cytosquelette

ELAHCENE

2016-2017

PLAN

B - LES MICROFILAMENTS FINS D'ACTINE

1. ultrastructure et architecture moléculaire
2. propriétés
3. variétés et distribution
4. protéines associées

C – LES FILAMENTS EPAIS DE MYOSINE

D - FONCTIONS : LA BIOMOTILITÉ

Objectif principal

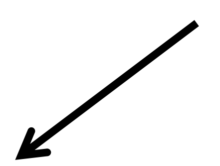
A l'issue de ce chapitre, l'étudiant doit être capable d'identifier les protéines structurant le cytosquelette et de corréler ses propriétés à différents événements de biomotilité

Objectifs spécifiques

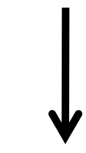
1. Définir le terme cytosquelette
2. Citer les trois éléments composant le cytosquelette: Microtubules, microfilaments fins d'actine et filaments intermédiaires.
Pour chaque élément:
3. Décrire ses caractéristiques morphologiques (aspects en microscopie électronique) ;
4. Donner ses composants moléculaires
5. Indiquer leurs distributions cellulaire et tissulaire

6. **Donner leurs propriétés physiologiques in situ**
7. **Préciser l'effet de quelques drogues corrélativement à leurs applications en thérapeutique**
8. **Expliquer le mode d'intervention de chaque élément dans les processus de biomotilité.**
9. **Décrire quelques pathologies humaines liées à leur dysfonctionnement.**

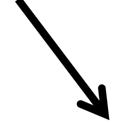
Le cytosquelette représente des édifices protéiques d'aspect filamentaire et fibreux



Dispersés dans
le hyaloplasme
et nucléoplasme

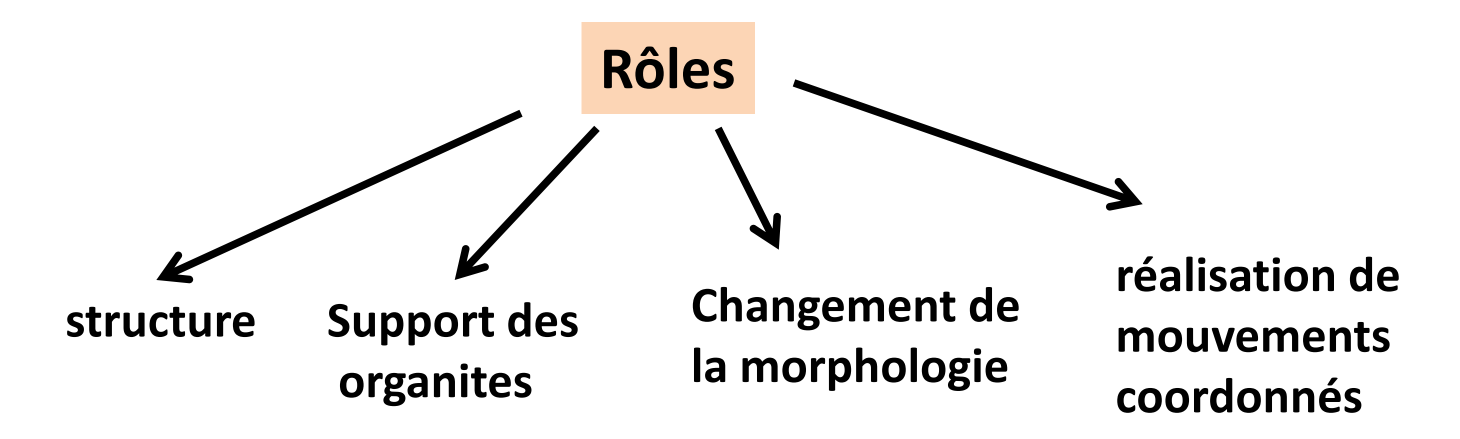


organisés en
faisceau
ou en réseaux dans
Le hyaloplasme
et nucléoplasme.



Organisé en structures
complexes : cils et
flagelles

Rôles



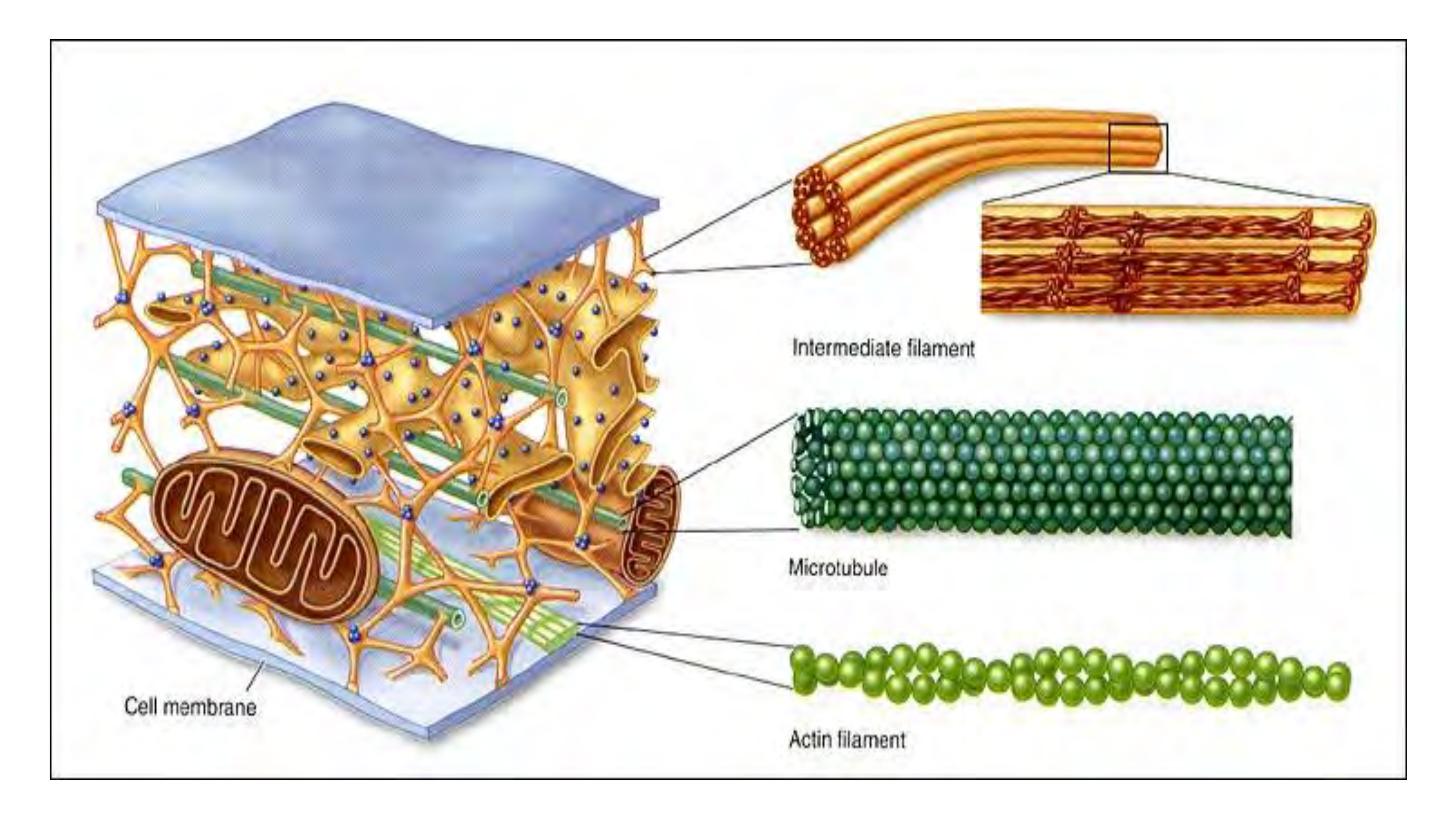
structure

Support des
organites

Changement de
la morphologie

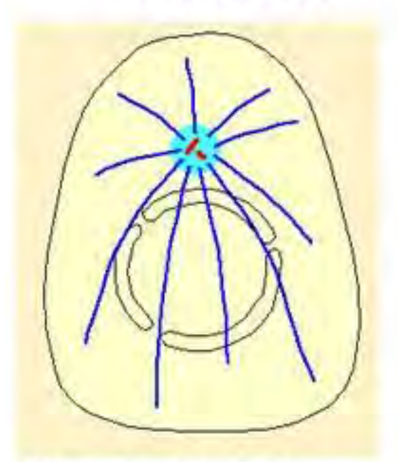
réalisation de
mouvements
coordonnés

Le cytosquelette s'étend dans toute la cellule, organise ses structures et ses activités



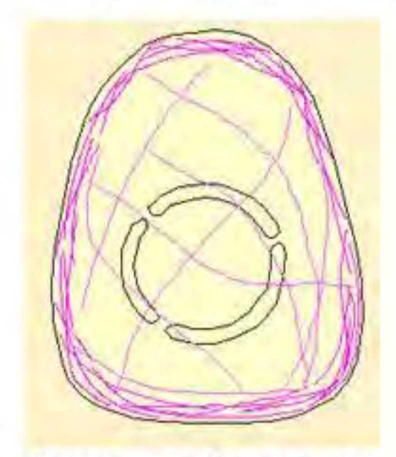
Localisation cellulaire

microtubules



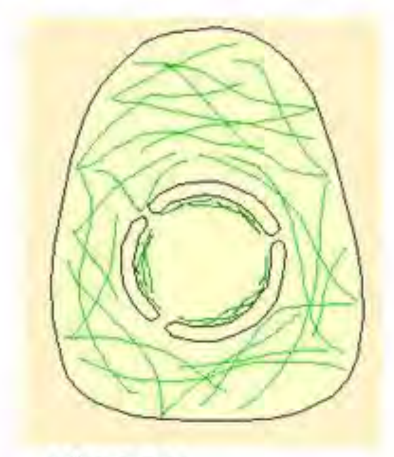
réseau dont le centre est situé au niveau du centrosome.

microfilaments d'actine



réseau qui occupe tout l'espace cytoplasmique.

filaments intermédiaires

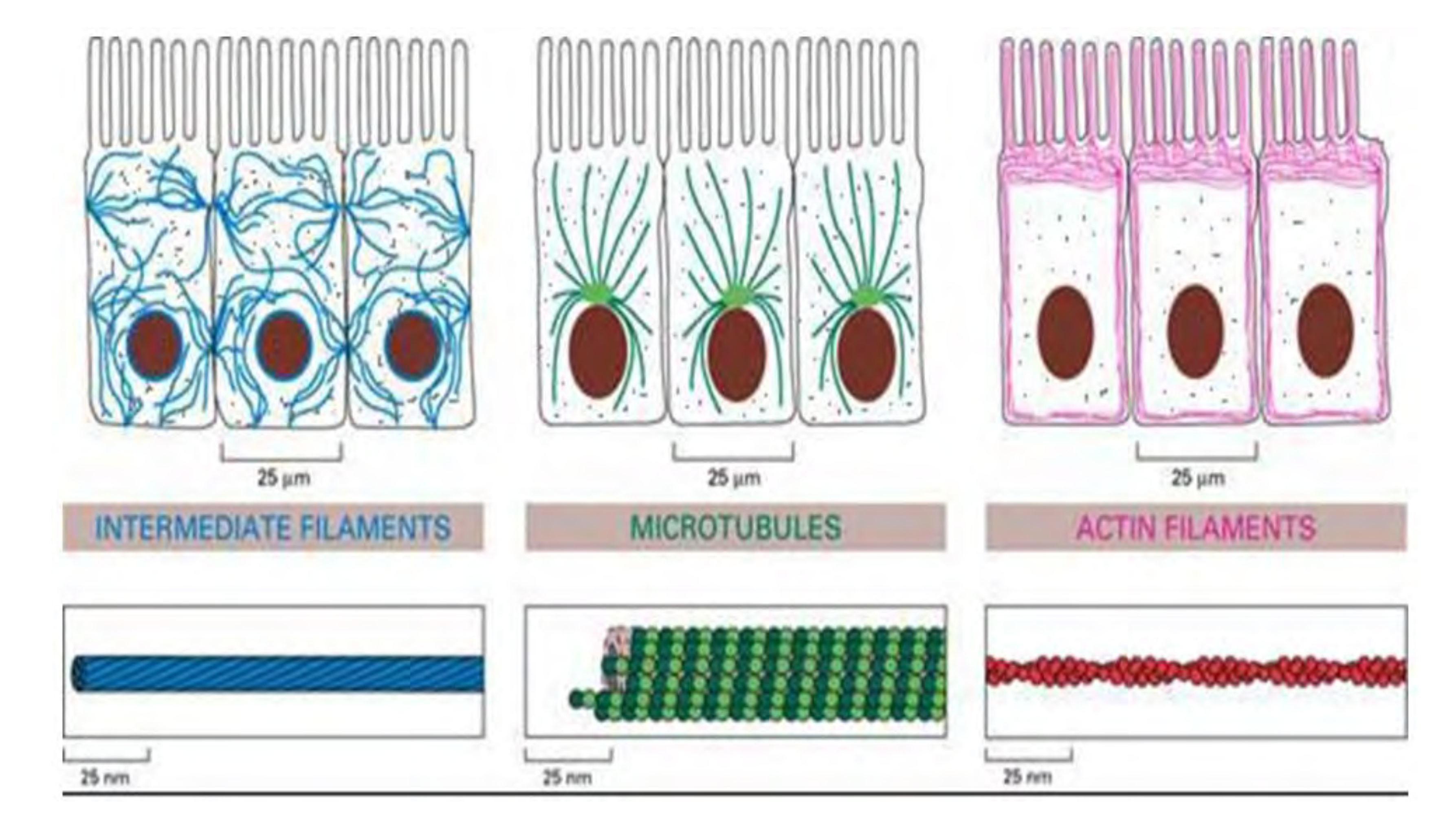


réseau principalement localisé sous la surface cellulaire.

(dans le hyaloplasme et la périphérie du nucléoplasme)

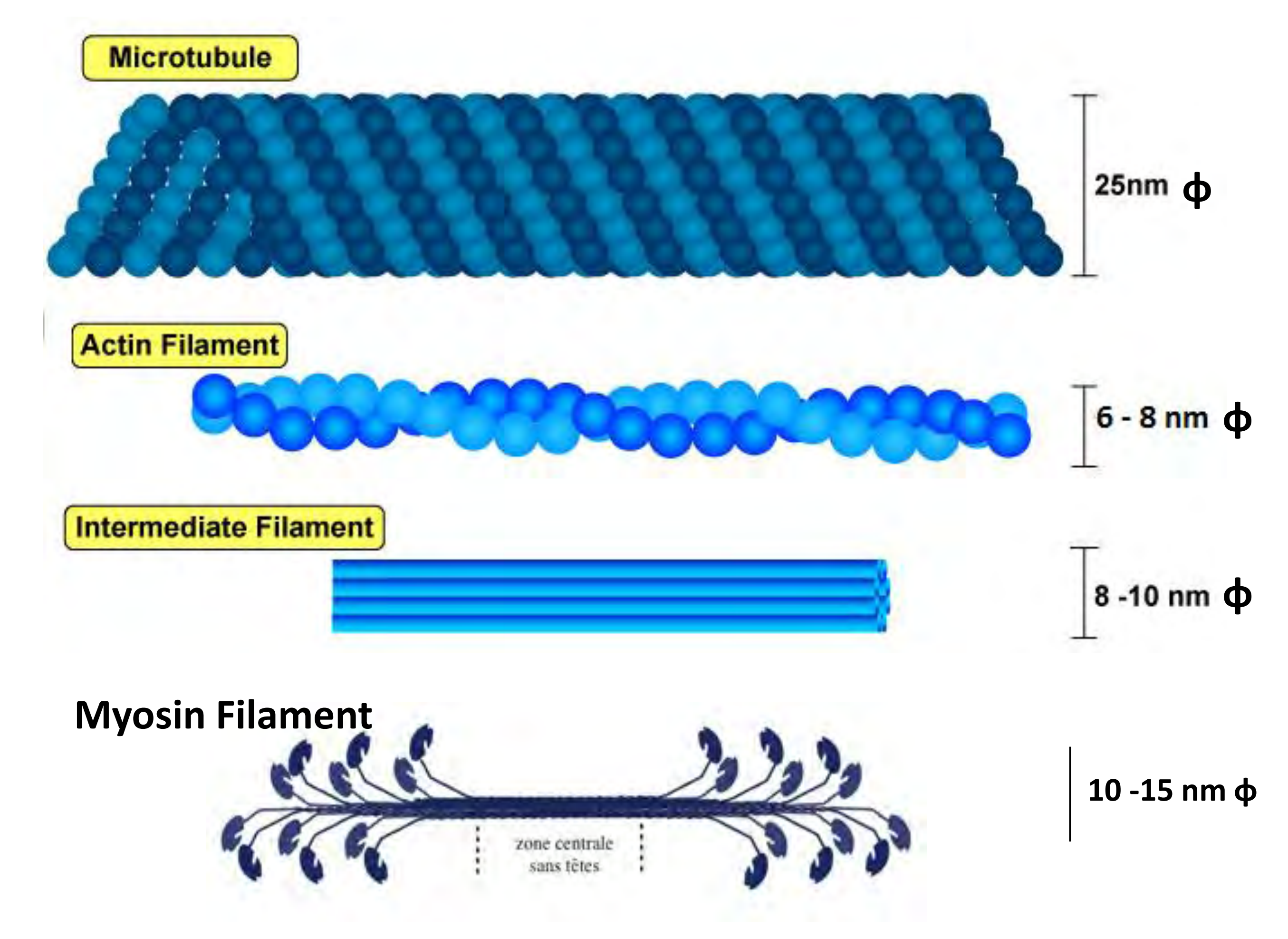
Distribution des éléments du cytosquelette dans la cellule épithéliale

Les techniques d'immunofluorescence permette d'établir la distribution Cellulaire et tissulaire des éléments du cytosquelette



Les éléments du cytosquelette

Les techniques de microscopie électronique permettent de classer les éléments du cytosquelette en fonction de leur diamètre et de déterminer l'agencement des protéines qui les composent



Les microtubules

les microtubules sont présents chez toutes les cellules eucaryotes a l'exception des érythrocytes

2 Types de microtubules

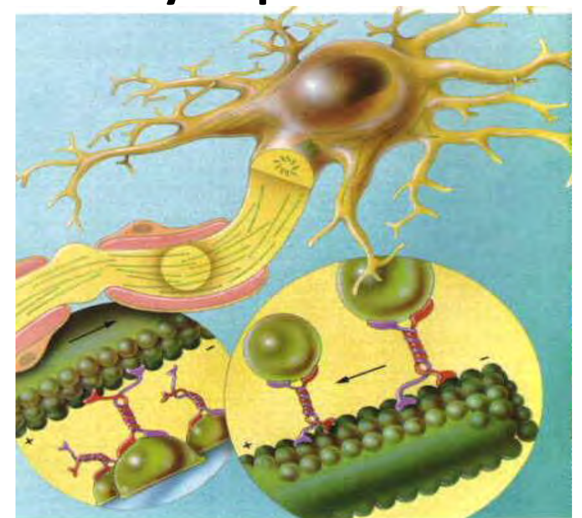


MT labiles (instables)

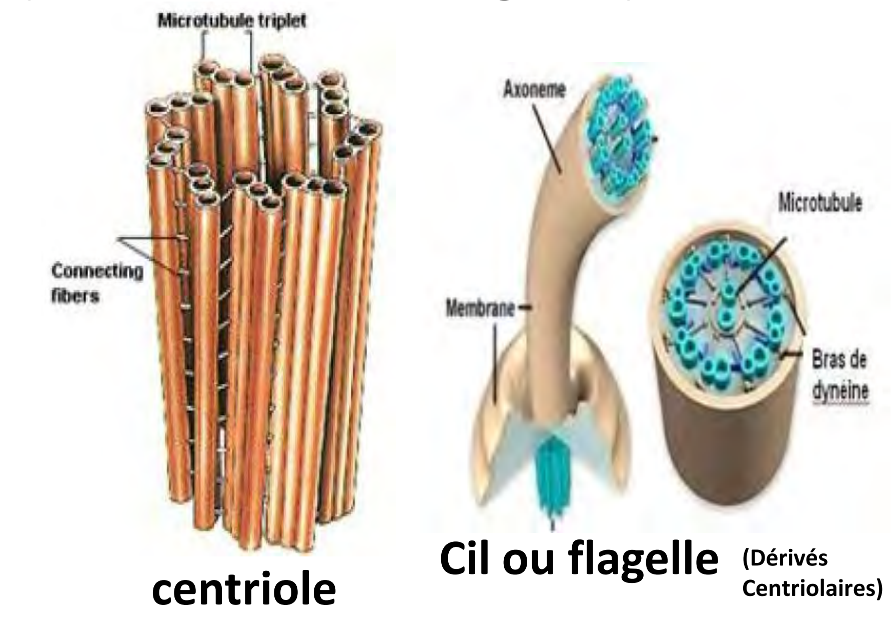
Isolés les uns des autres dans l'hyaloplasme des cellules

MT stables (non labiles)

organisés en structures complexes (centrioles, cils et flagelles)

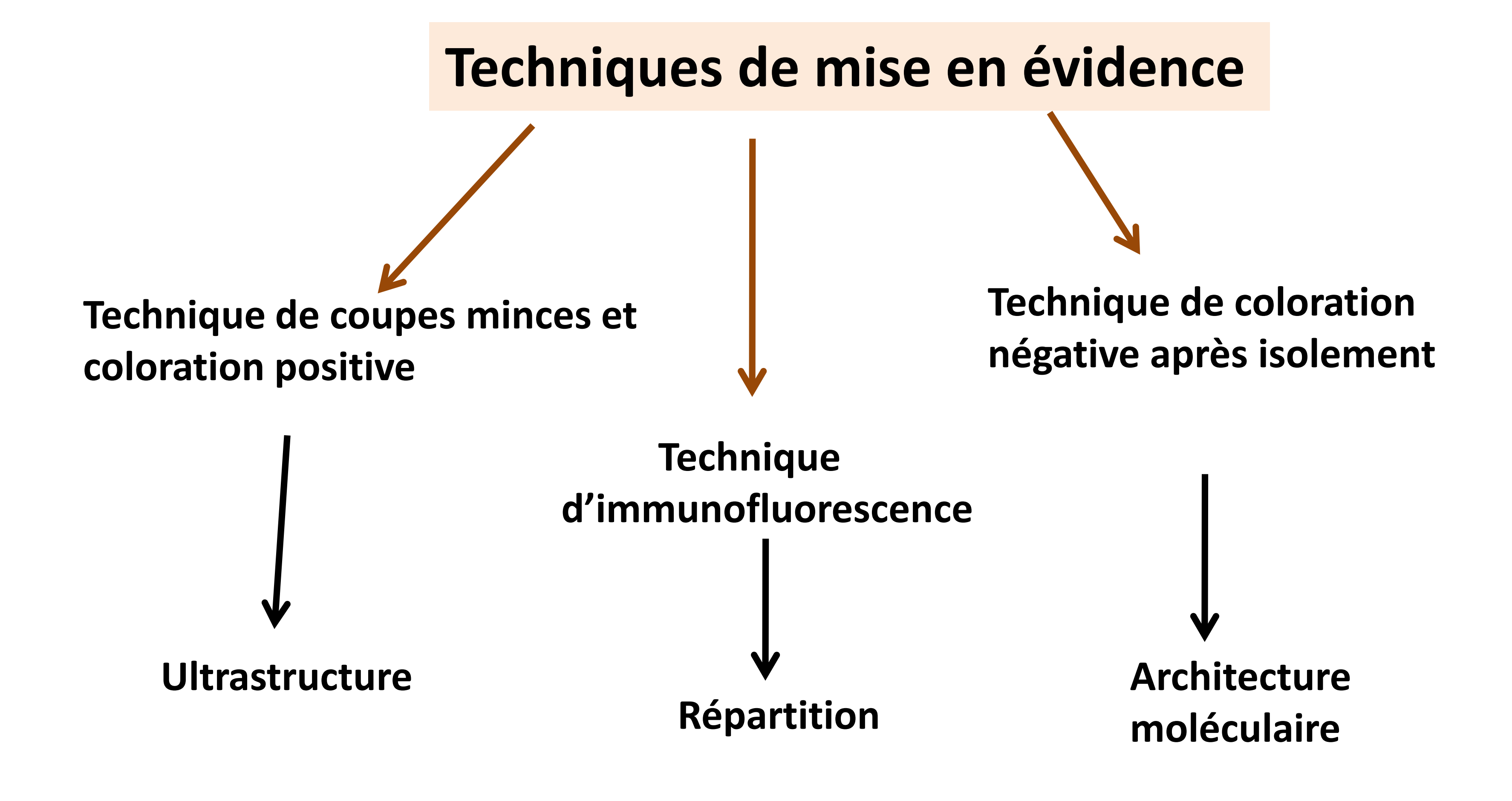


Les Microtubules de l'axone (libres)

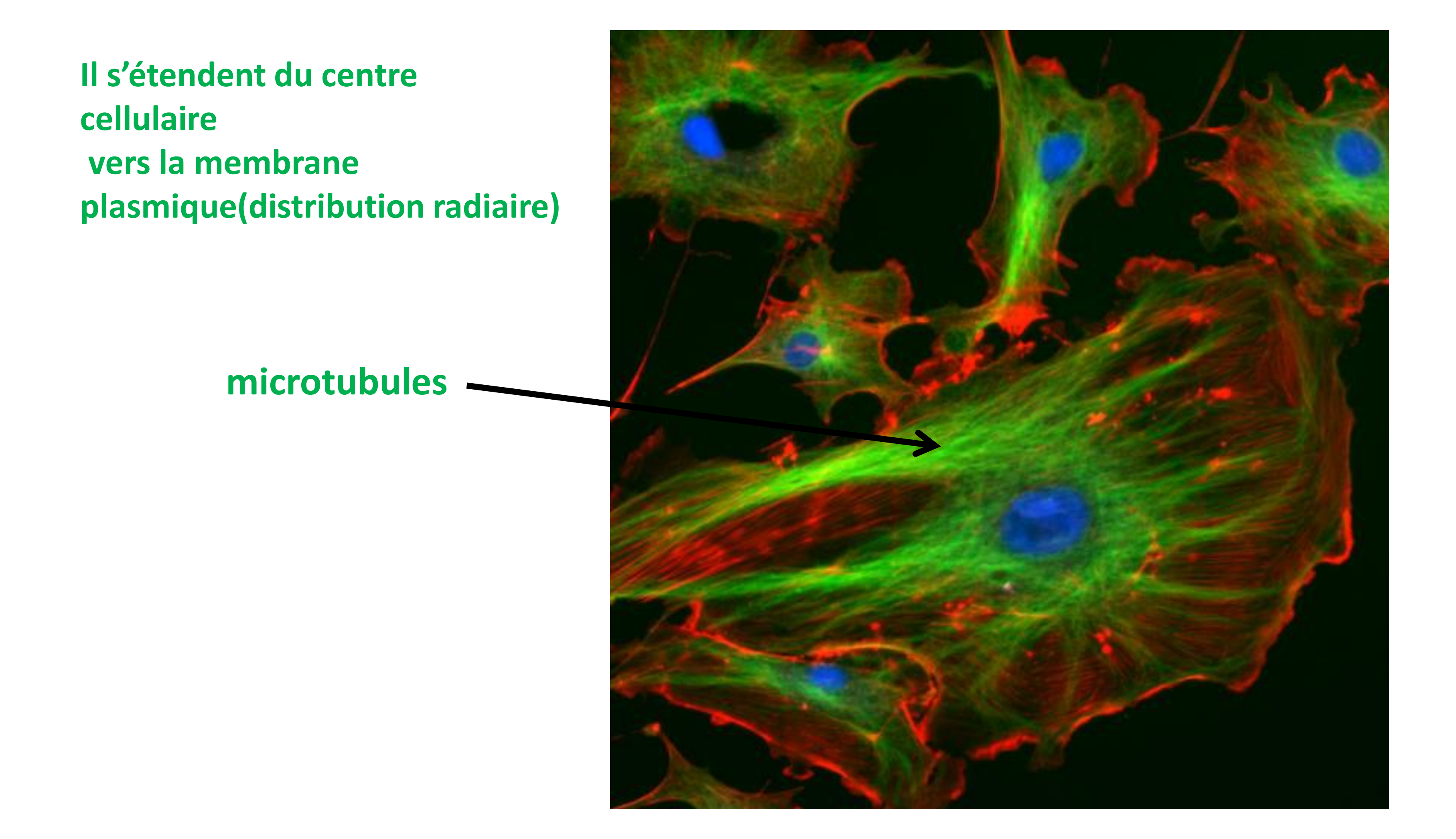


centriole

Cil ou flagelle (Dérivés Centriolaires)

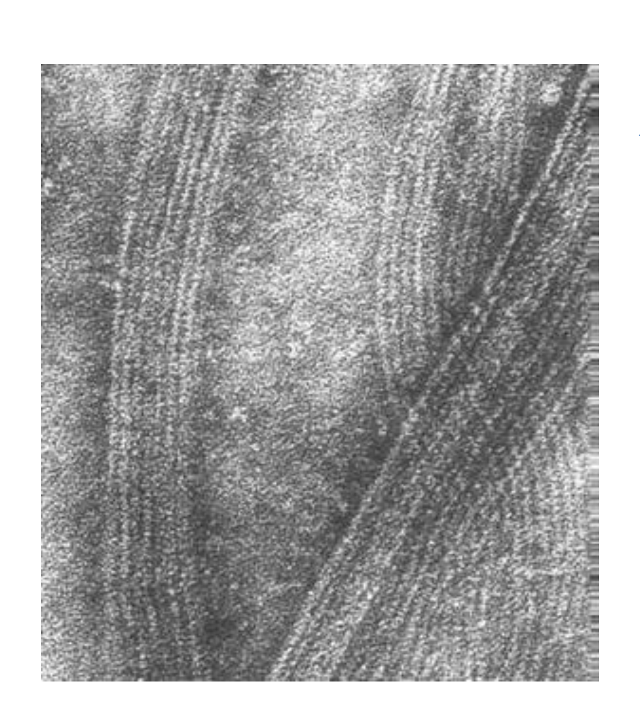

Techniques de mise en évidence
Technique de coupes minces et coloration positive
Technique d'immunofluorescence
Technique de coloration négative après isolement
Ultrastructure
Répartition
Architecture moléculaire

Mise en évidence des MT par un immunomarquage (par AC anti tubuline) en microscopie à fluorescence

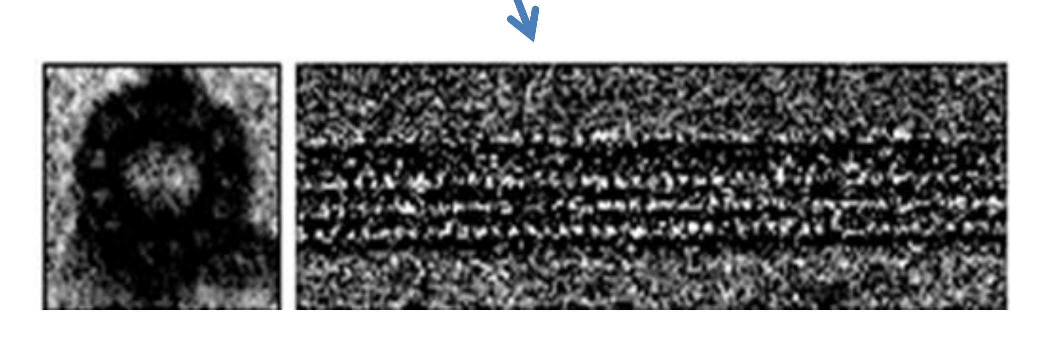


Aspect des microtubules labiles en microscopie électronique à transmission

Structures allongées et cylindriques



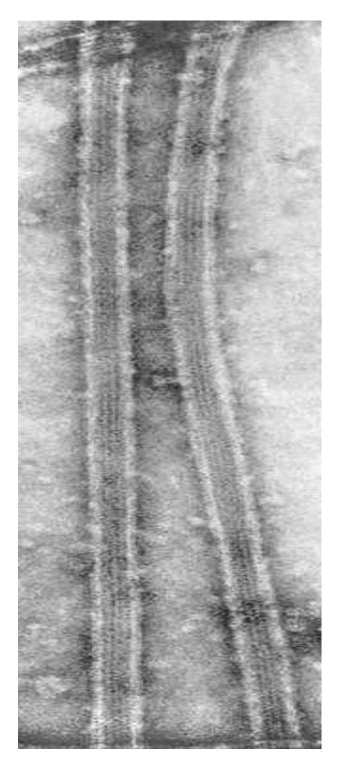
Après coloration négative



Après coloration positive

Cylindre creux de: 25 nm de diamètre et 5nm d'épaisseur

Microtubules isolés et observés au MET après contraste négatif



Dans le plan longitudinal : le cylindre comprend : 13 protofilaments



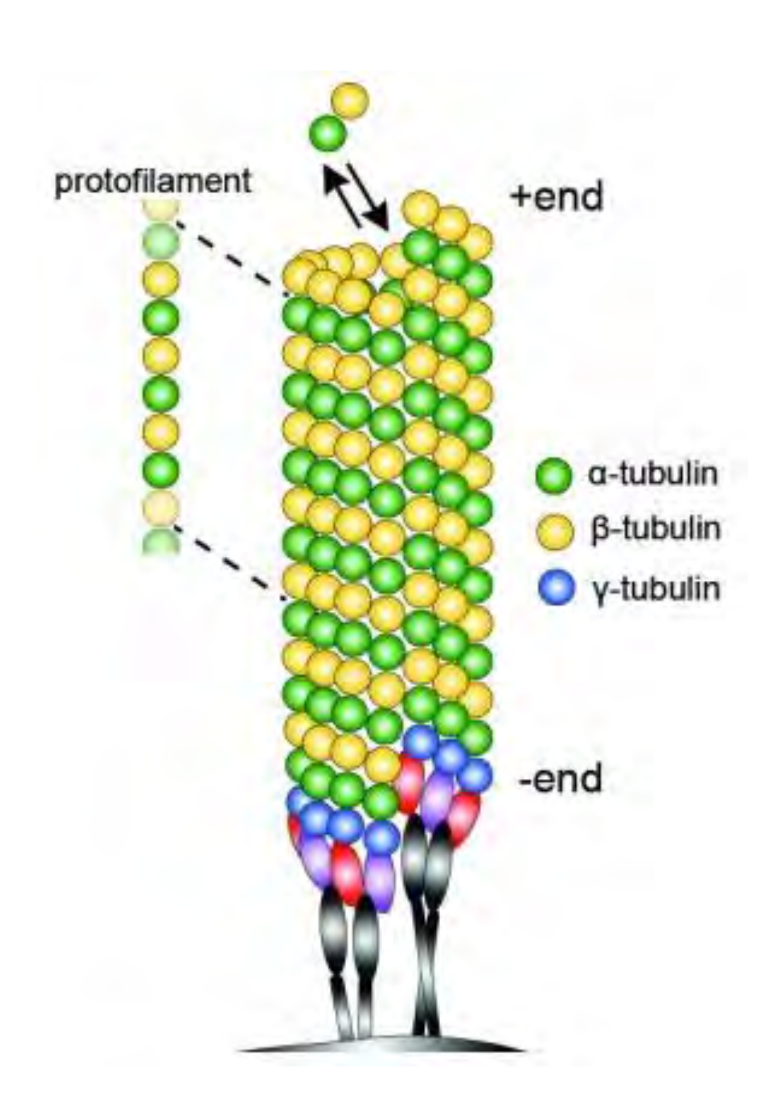
Dans le plan transversal : la Paroi du cylindre comprend 13 monomères protéiques de forme globulaire

Architecture moléculaire d’un microtubule néoformé

C’est un cylindre creux.

Sa paroi est composée de 13 protofilaments décalés les uns par rapport aux autres suite à la disposition hélicoïdale de ses protéines constitutives : les tubulines α et β .

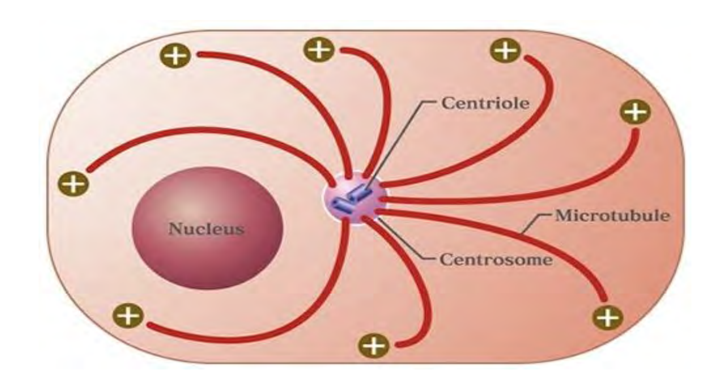
Les dimères de tubulines α et β sont disposés sur un anneau de tubuline γ



1. LES MICROTUBULES LABILES

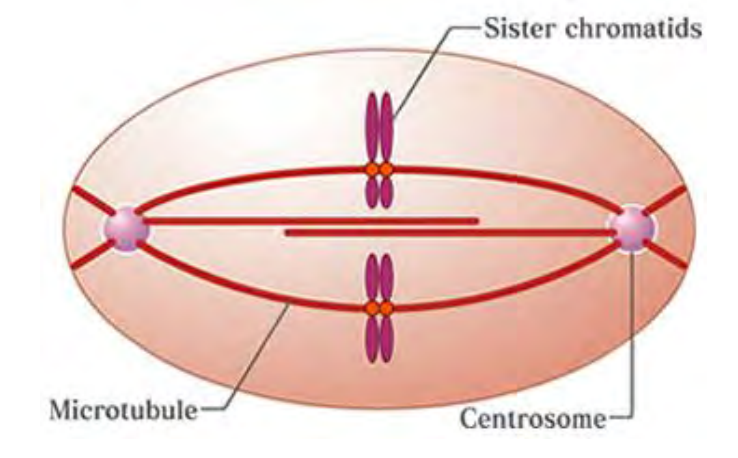
Cellules en interphase

- Dispersés dans le hyaloplasmes des différents types cellulaires (sauf les hématies)
- Occupent l'axone et les dendrites des neurones)



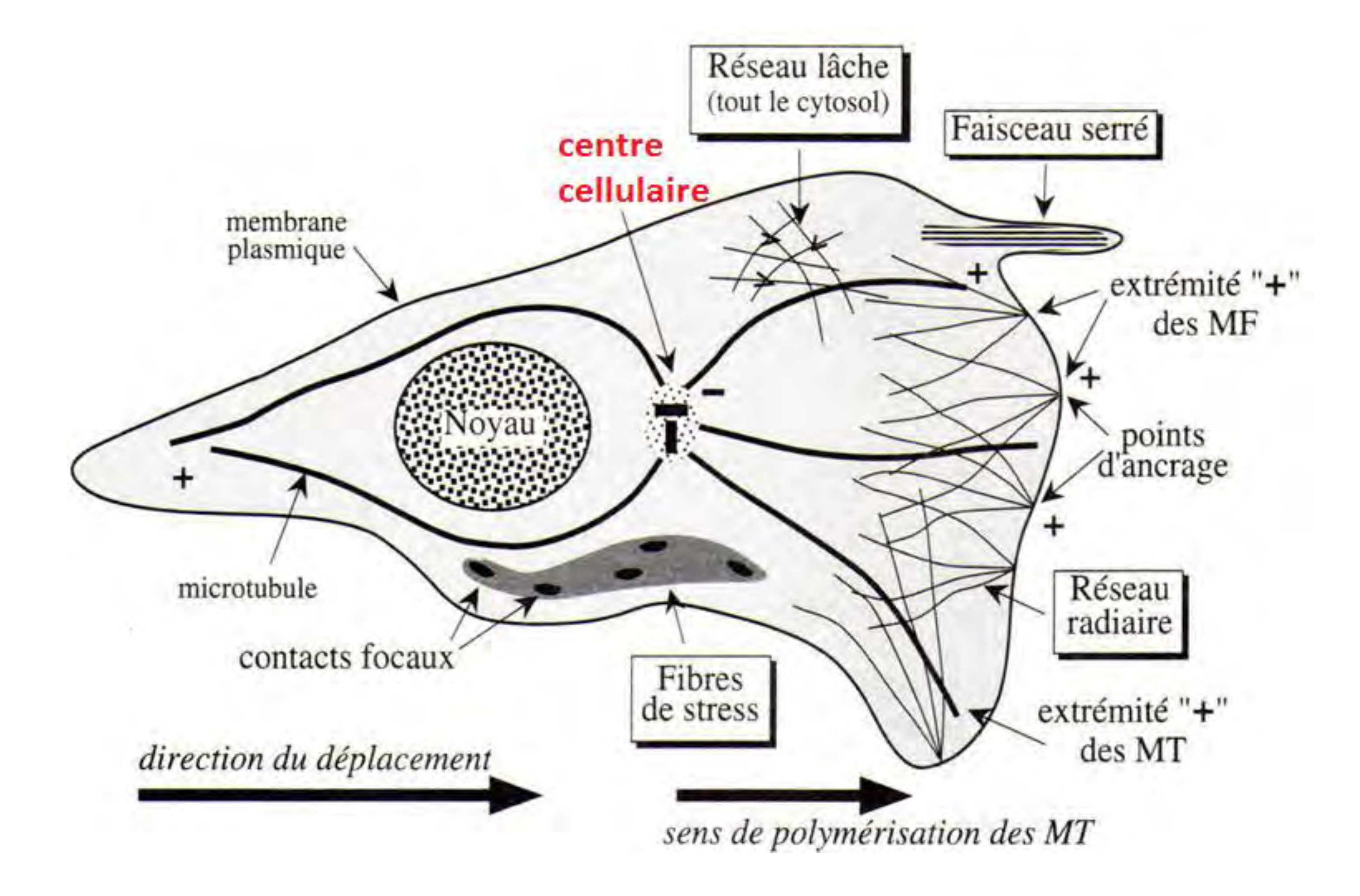
Au cours de la mitose

- Forment le fuseau achromatique (mitotique) au cours des divisions (mitose et méiose)

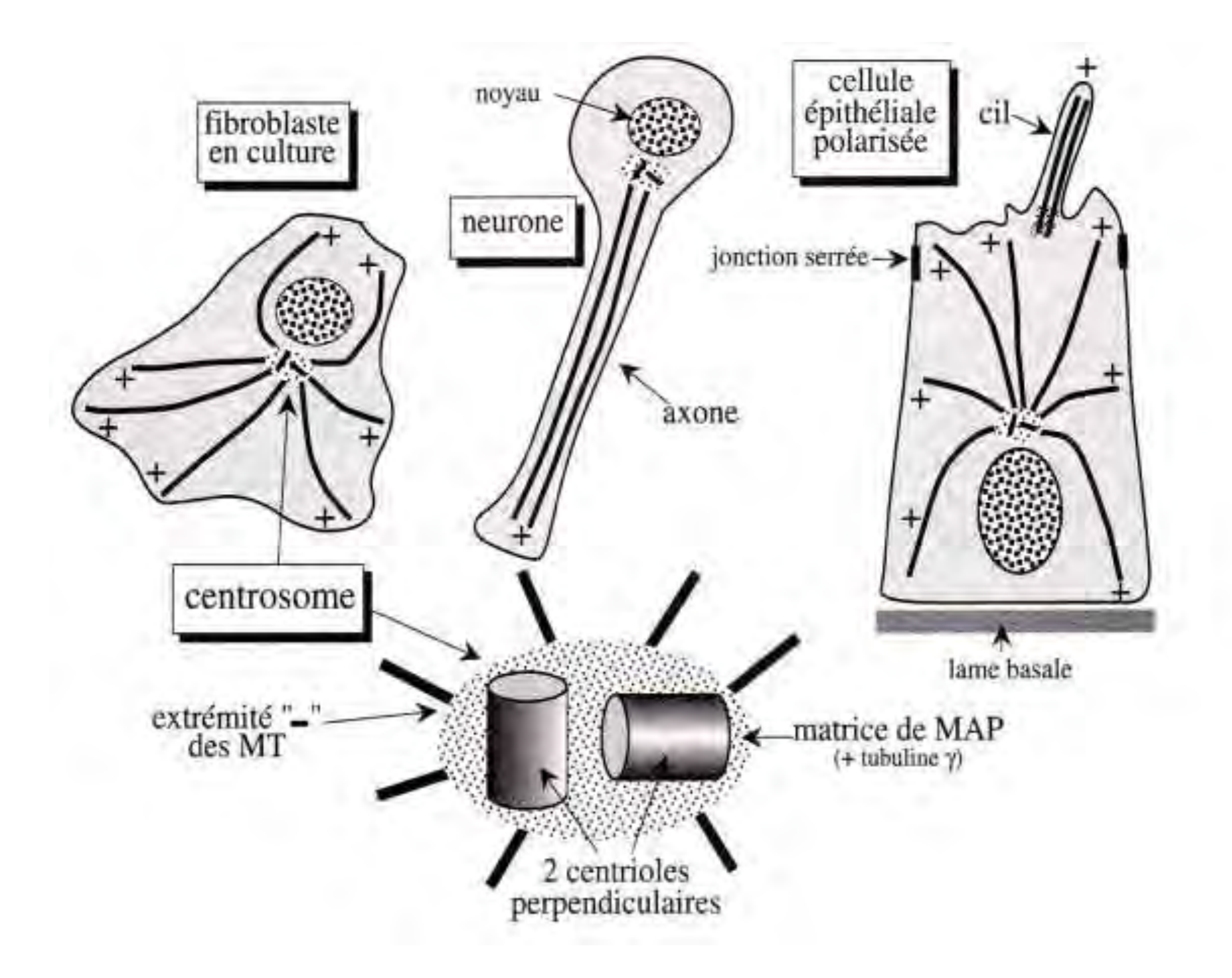


BIOGENÈSE DES MT

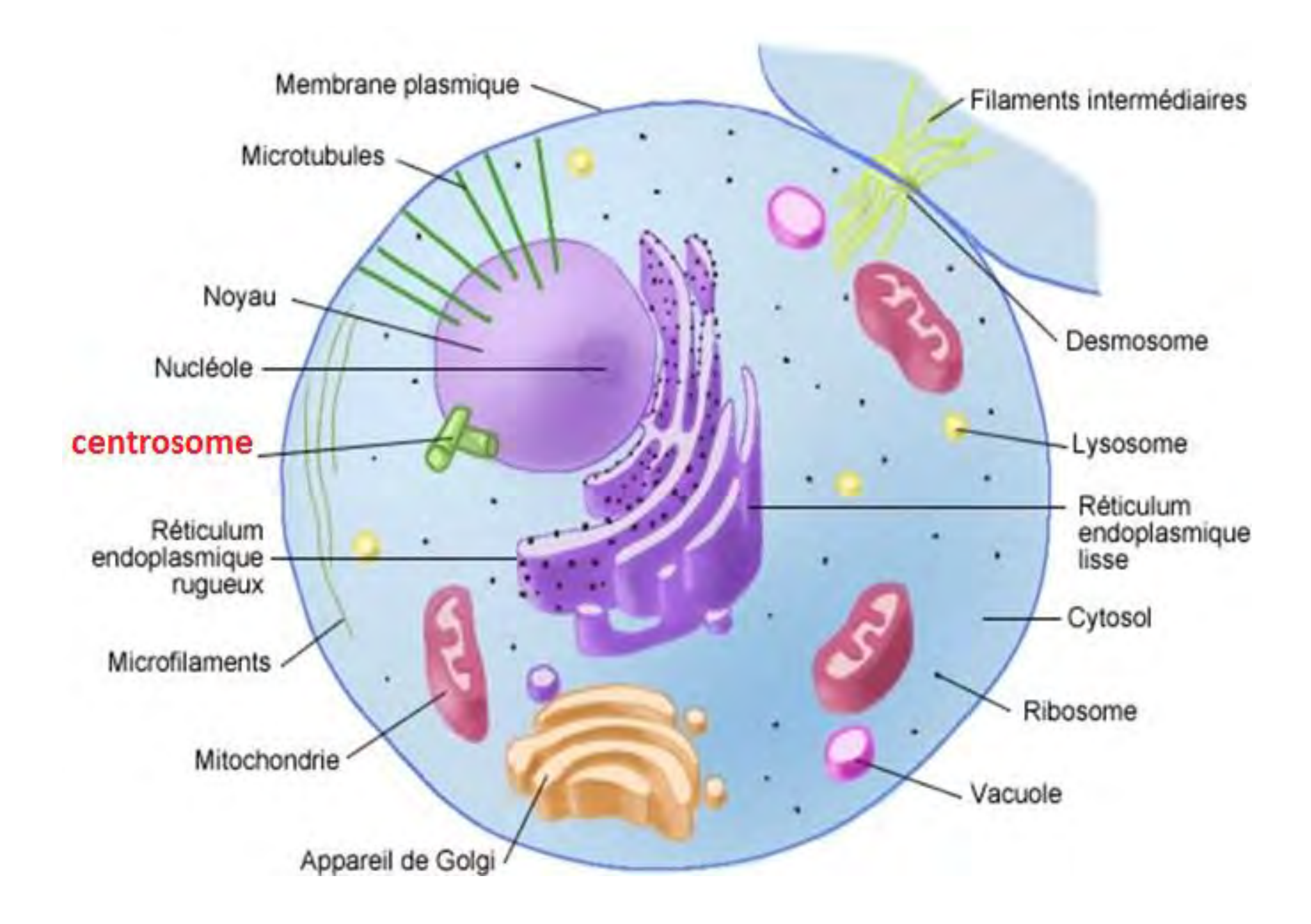
Dans la cellule eucaryote les MT Labiles prennent naissance au voisinage du centrosome (centre cellulaire) et s’orientent vers la périphérie cellulaire.



Les sites de nucléation donnent une orientation centrifuge aux MT cellulaires



Localisation cellulaire du centrosome

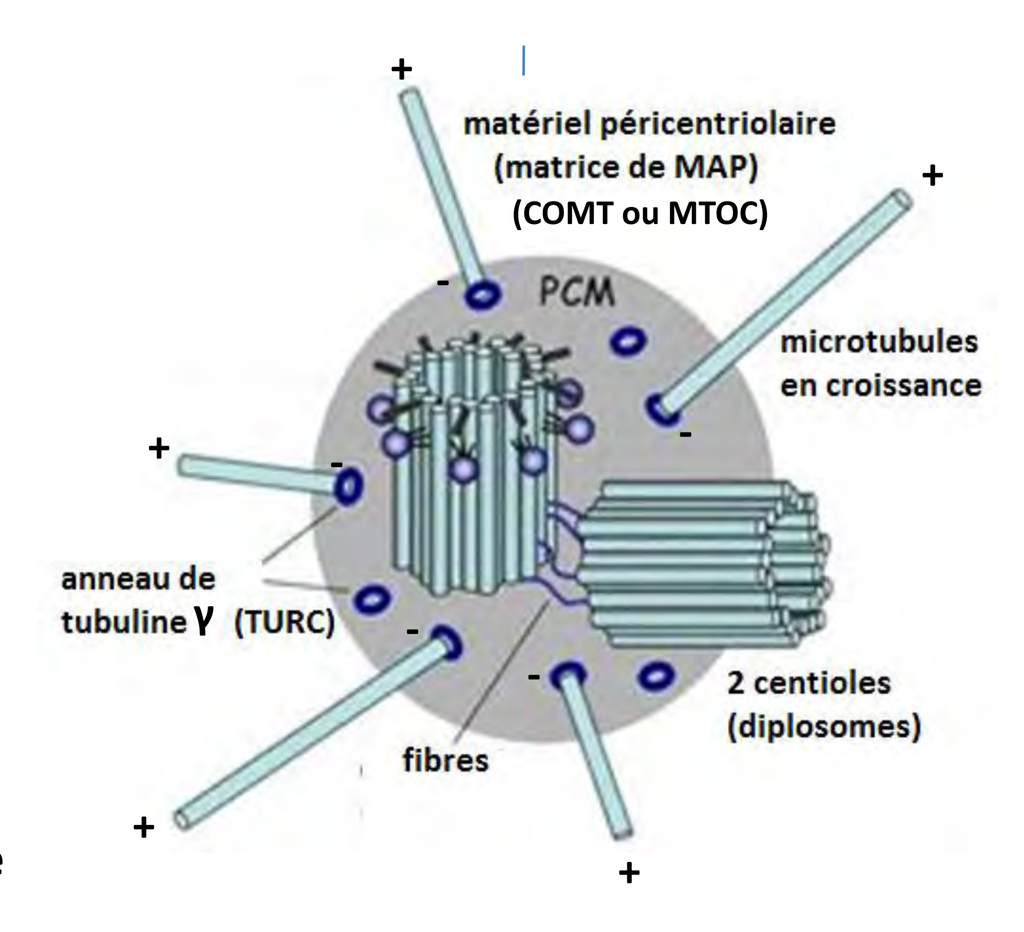


Organisation du centrosome

Une paire de centriole et un matériel péri centriolaire (matrice de MAP)

Composition de MAP :
tous les types de tubuline : α, β, γ ...
et protéines associées

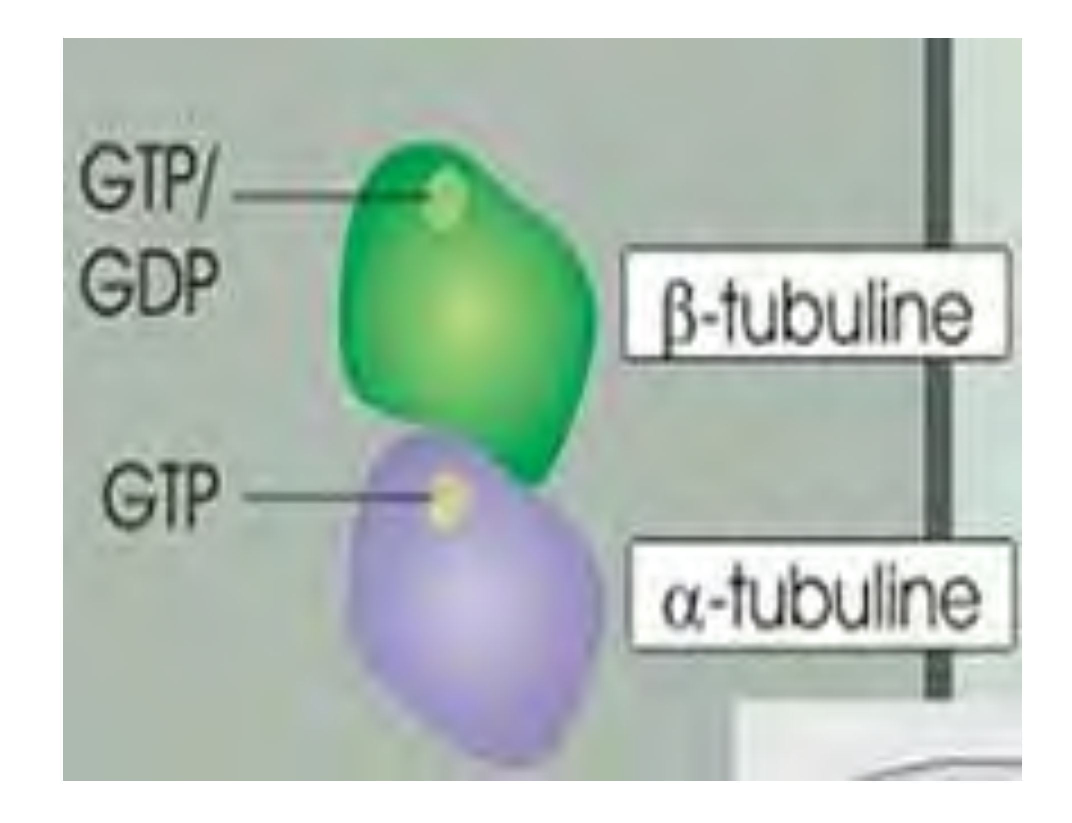
La γ tubuline est disposée en périphérie en forme d'anneau hélicoïdal turc (tubuline ring complexe) qui sert de plate forme pour la nucléation des microtubules.



PCM= matrice péricentriolaire

Le monomère de tubuline α porte un site de fixation pour le GTP, ce GTP n'est pas échangeable

Le monomère β de tubuline porte un site de fixation pour GDP ou GTP ,ce GTP est échangeable



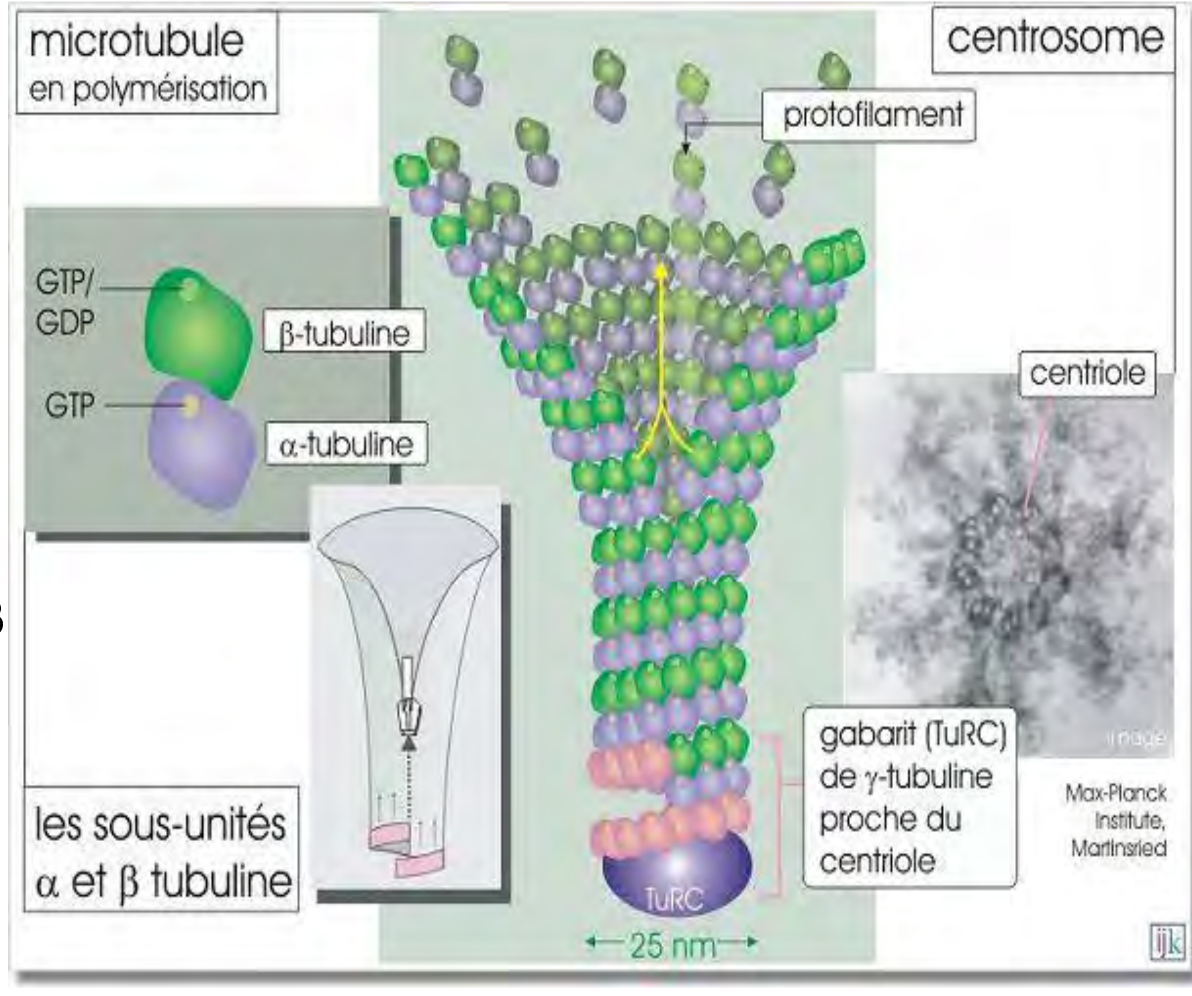
Matrice de MAP et mise en place des MT

Le dimère de tubulines se forme en présence de GTP

↓

tubuline α GTP et tubuline β GTP

Le GTP de la Sous unité β est hydrolysable en GDP



Les Conditions locales de la biogénèse

- ❖ Disponibilité de GTP
- ❖Présence de tout les types de tubuline et autres protéines d'association au niveau du site de nucléation
- ❖ Forces ioniques favorables

Le monomère de tubuline β est déterminant dans la biogenèse des MT ,car il porte :

- **un site de fixation pour GDP ou GTP (pour s'associer à α , il lie le GTP)**
- **un site d'hydrolyse du GTP**

Il peut s'associer au monomère α

Etapes de biogénèse des MT

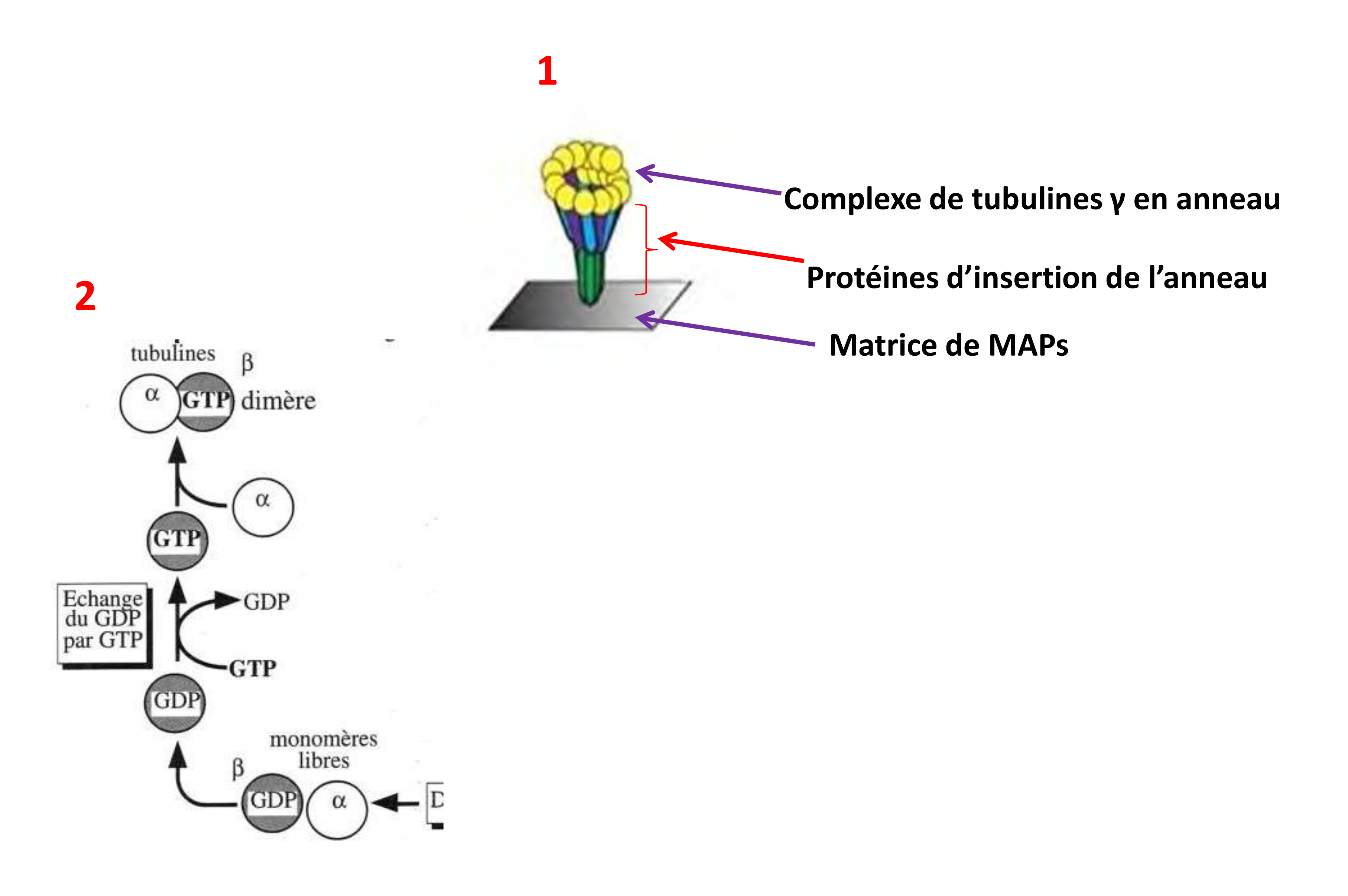
1 - Les tubulines γ forment une assise sur laquelle sera bâtit le microtubule: c'est la mise en place de l'anneau TuRC .
Cette étape forme l'étape de nucléation

2 - Activation du monomère β : échange GDP par GTP et formation de dimères α β -GTP (hétéro dimères)

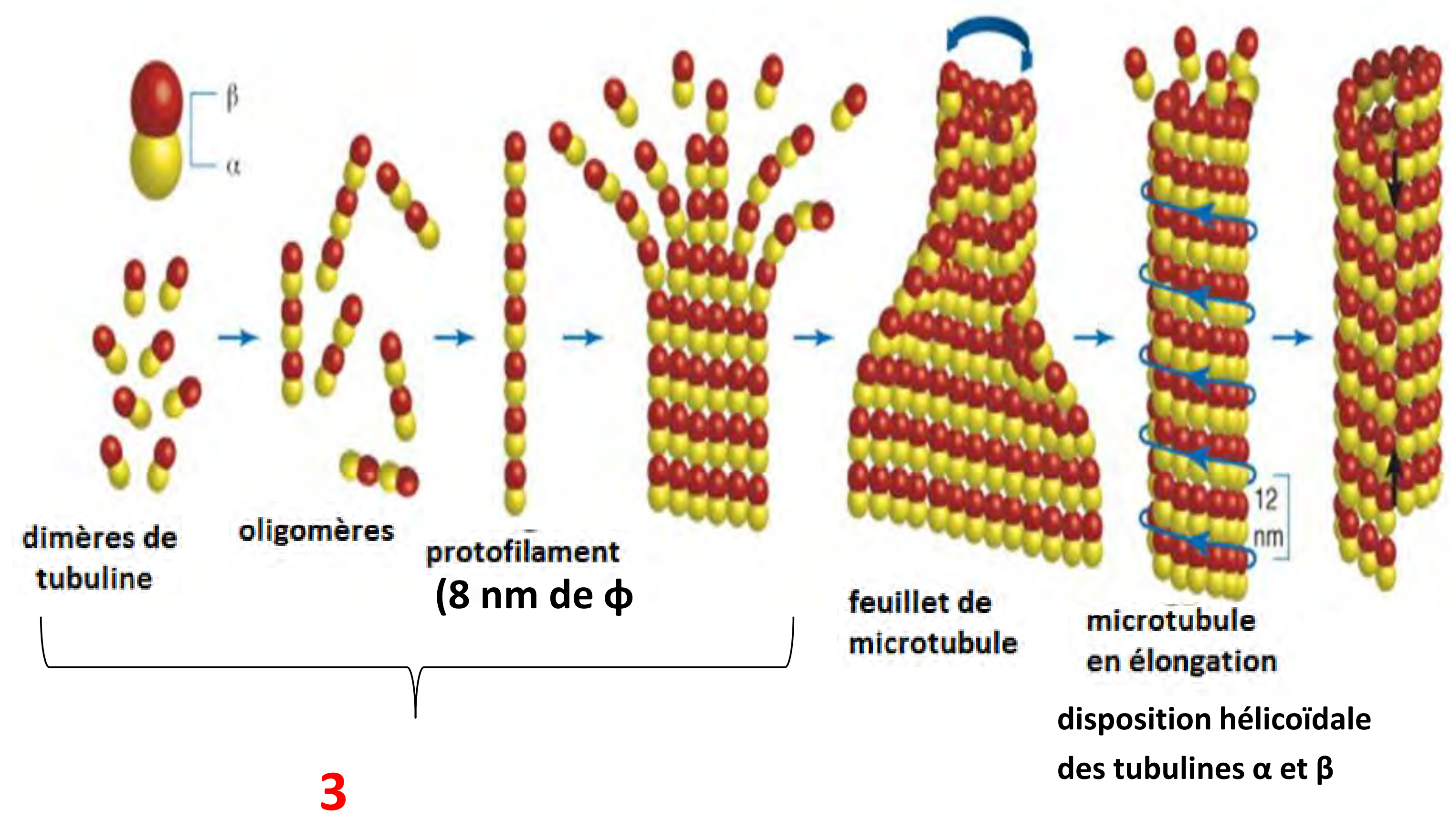
3 - Des dimères de tubulines (α-β) se positionnent sur l'anneau TuRC leur alignement vertical forme progressivement 13 oligomères qui s'allongent en protofilaments

4 - Au cours de la croissance des protofilaments les tubulines β hydrolysent le GTP et deviennent porteuses de GDP

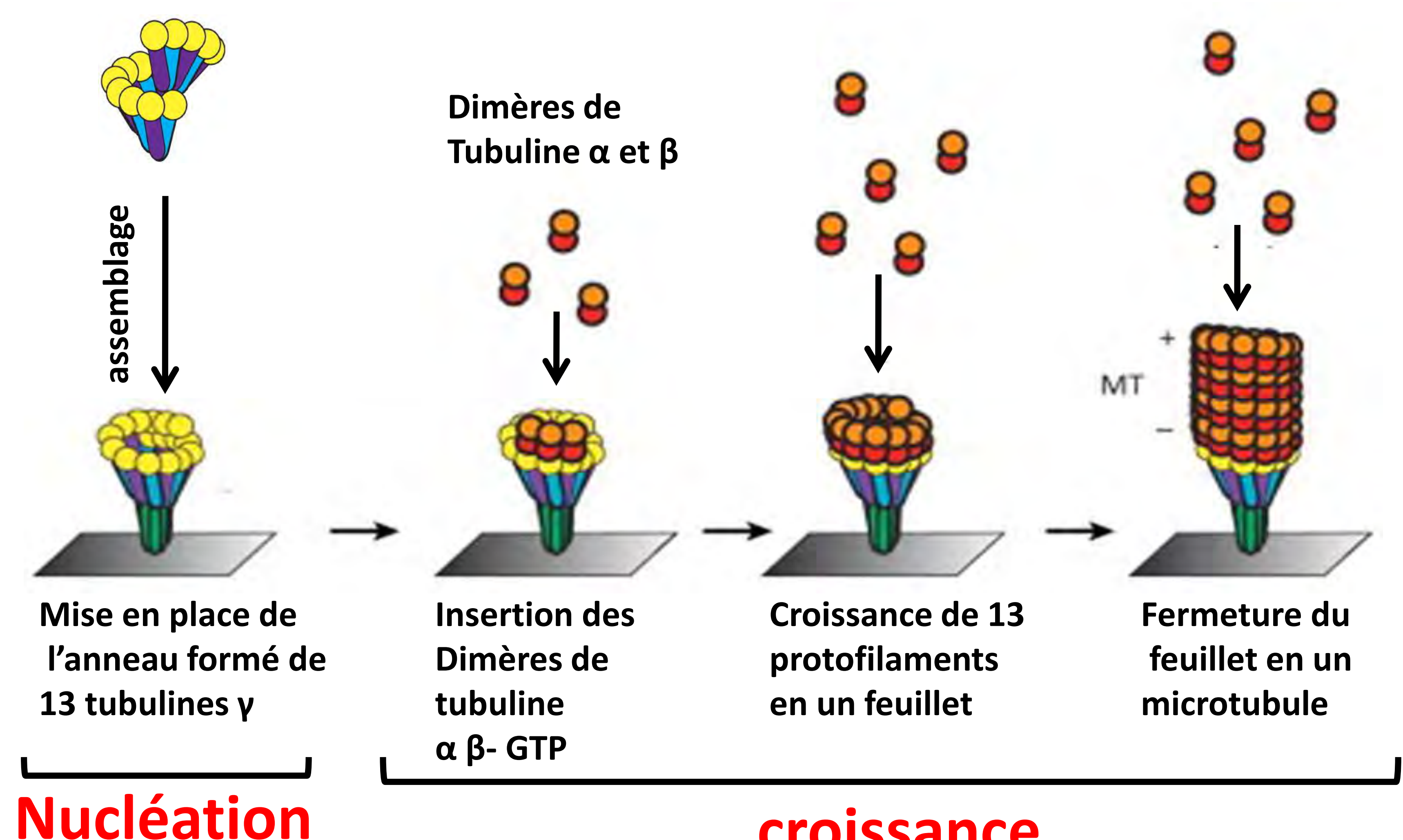
5 - les 13 oligomères en croissance forment un feuillet qui se referme en un MT


1
Complexe de tubulines γ en anneau
Protéines d'insertion de l'anneau
Matrice de MAPs
2
tubulines
β
α
GTP
dimère
α
GTP
Echange du GDP par GTP
GDP
GTP
GDP
monomères libres
β
GDP
α

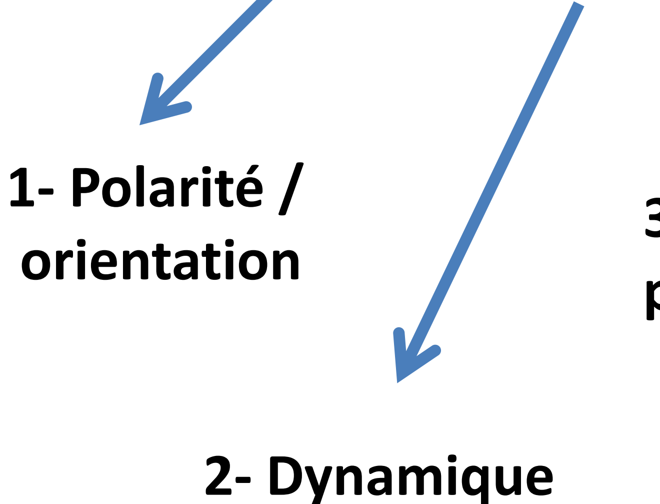
Fermeture du feuillet pour la formation du microtubule



Mécanisme de biogénèse des microtubules labiles



Propriétés des MT labiles



1- Polarité / orientation

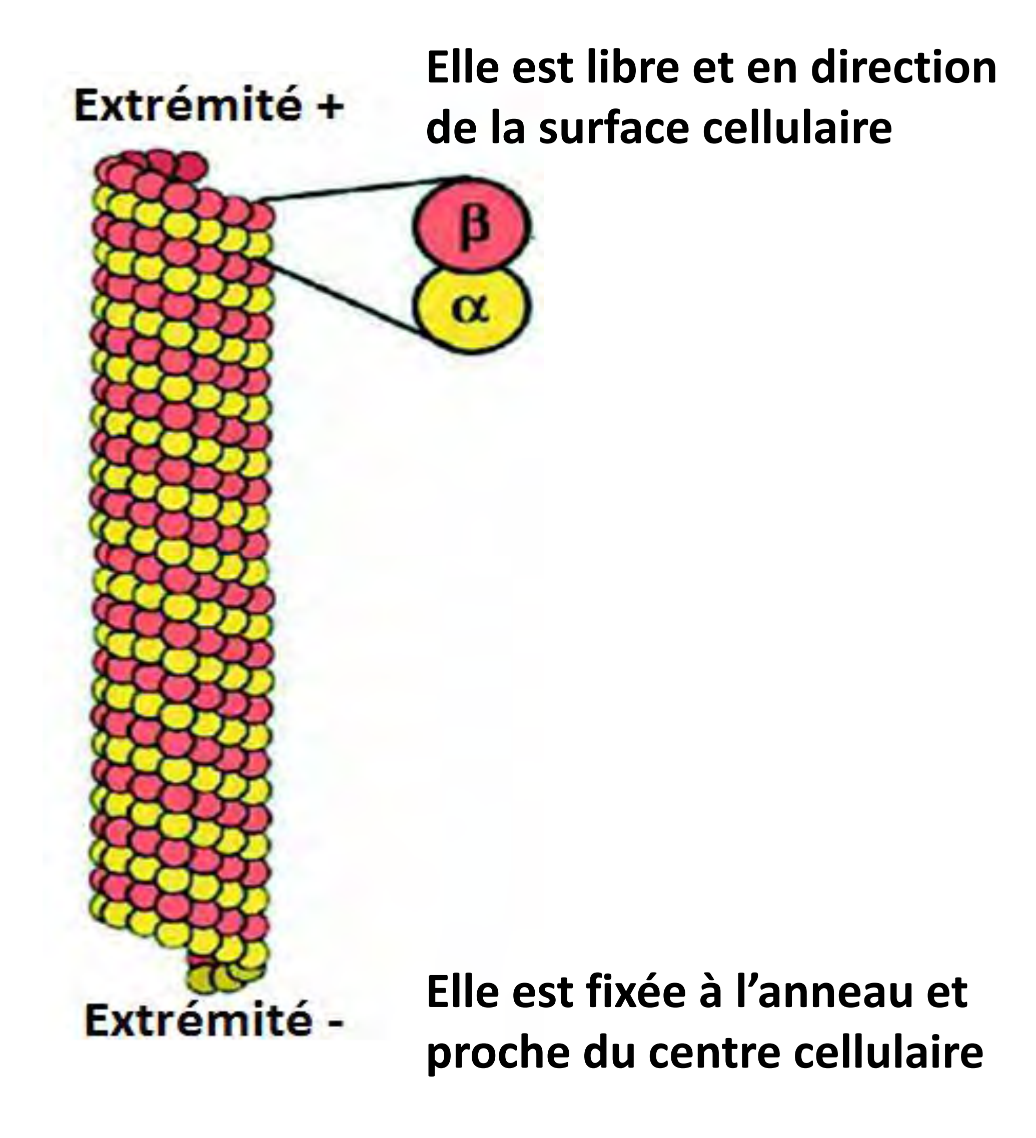
2- Dynamique

3- Interaction avec des protéines intracellulaires



4 - Sensibilité aux drogues

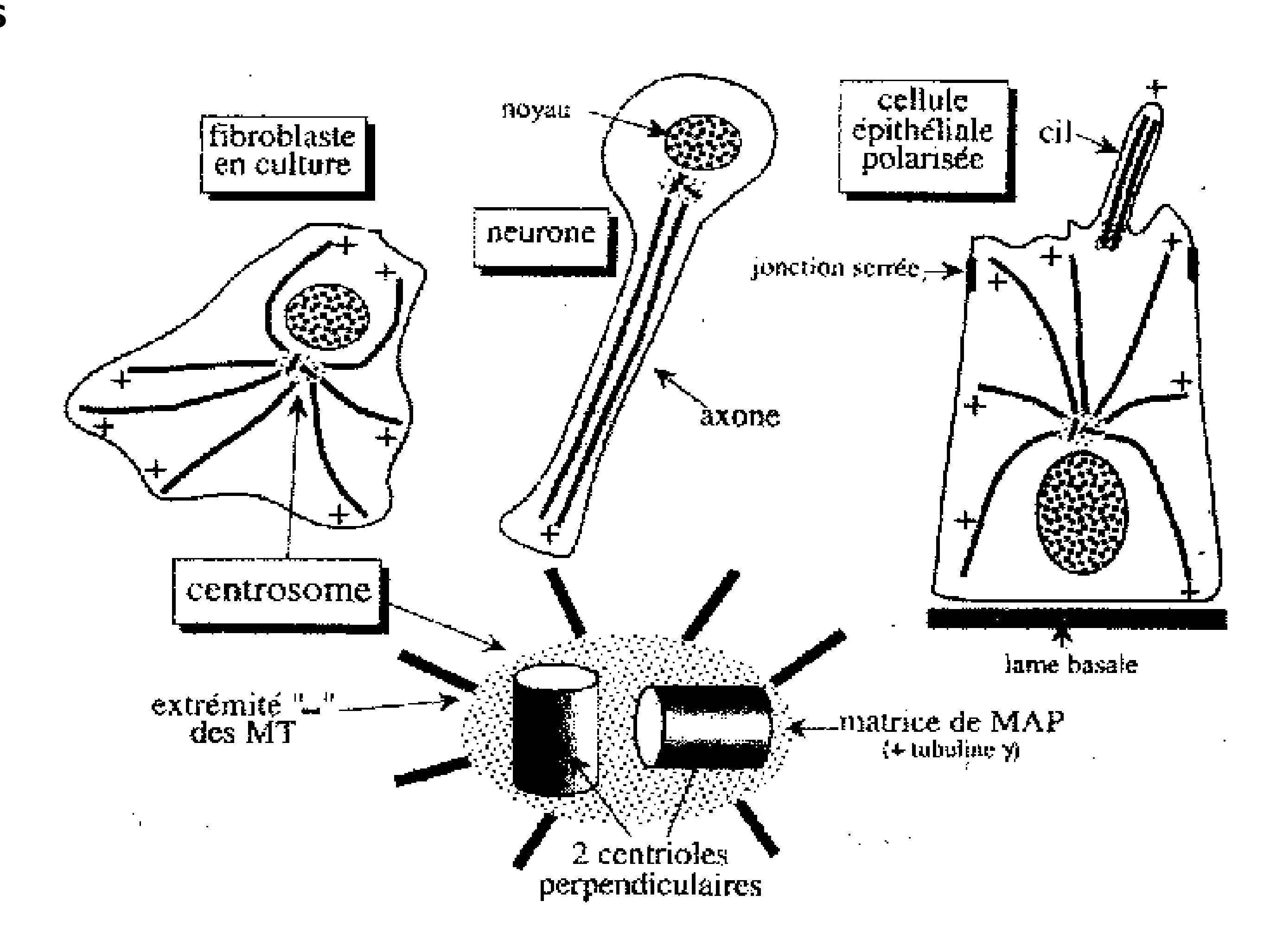
Polarité des MT



Orientation des MT dans différents types cellulaires

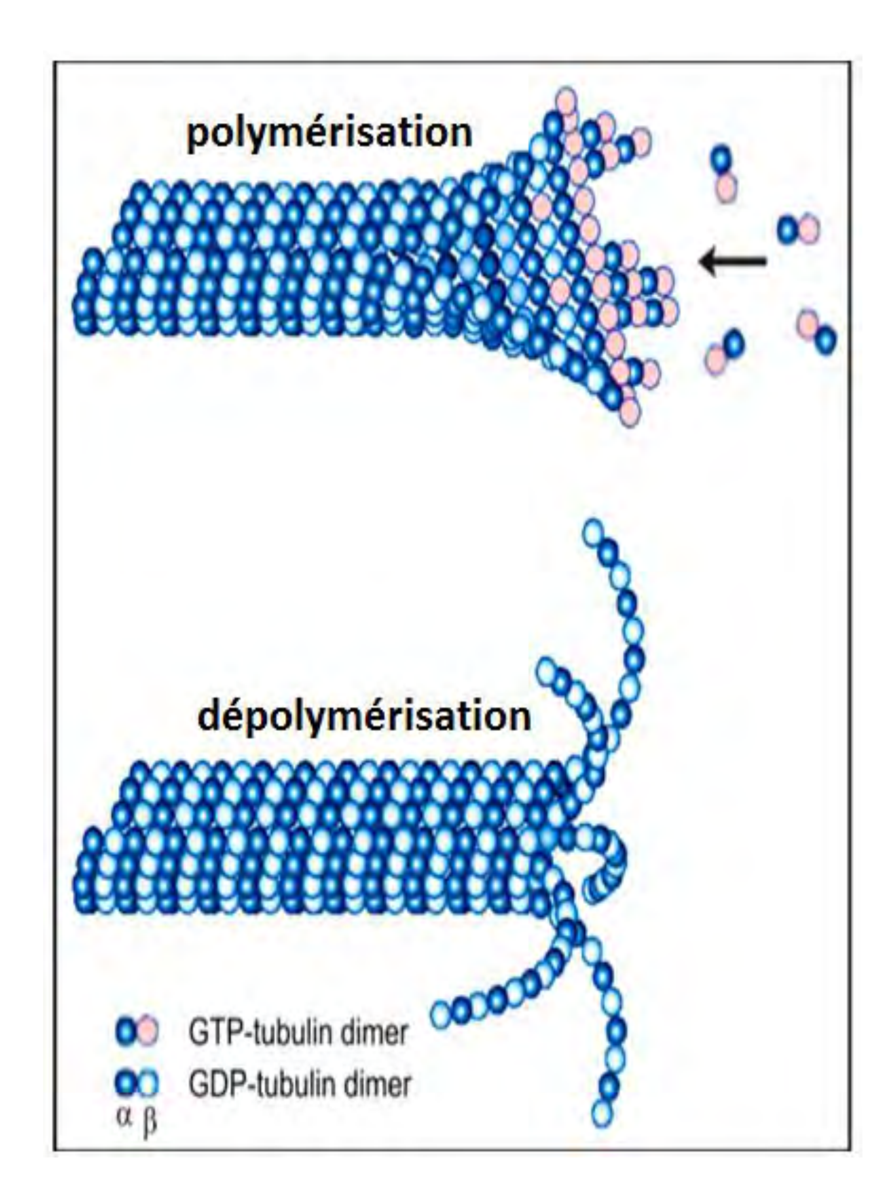
Étant des structures dynamiques les MT s'orientent et orientent leur extrémité + vers la membrane plasmique

leur extrémité – est au centre organisateur des microtubules



Dynamique

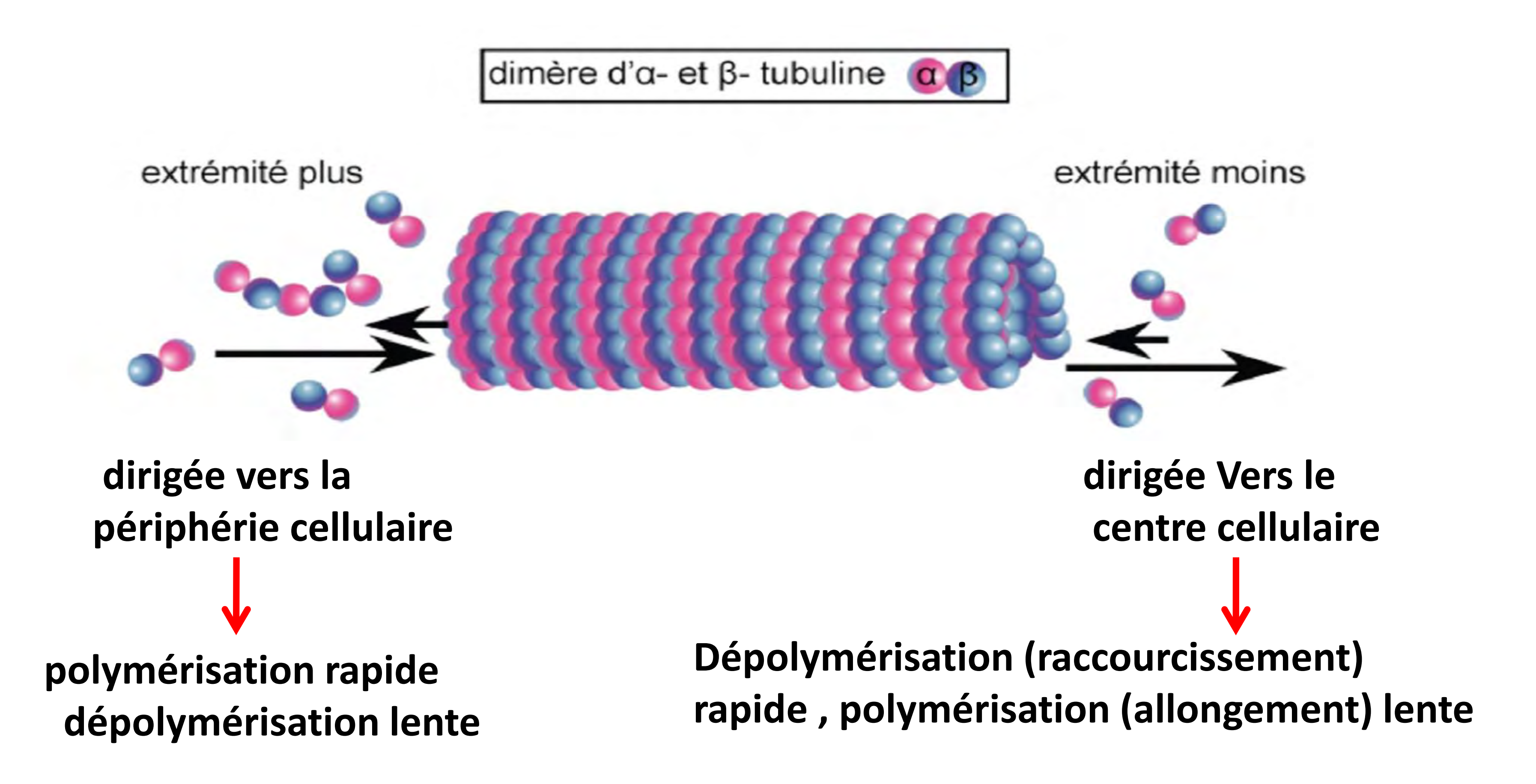
Le MT se polymérise par addition (gain) de dimères actifs de tubuline GTP (tubuline α GTP et tubuline β GTP)



Le MT se dépolymérise par libération (perte) de dimères de tubuline (tubuline α GTP et tubuline β GDP)

Le MT labile peut s'allonger ou se raccourcir à ses 2 extrémités et à des vitesses différentes ces dernières sont déterminées par :

- **Coiffe GDP/GTP**
- **Protéines associées**
- **Activité physiologique de la cellule**



dirigée vers la périphérie cellulaire

↓

polymérisation rapide dépolymérisation lente

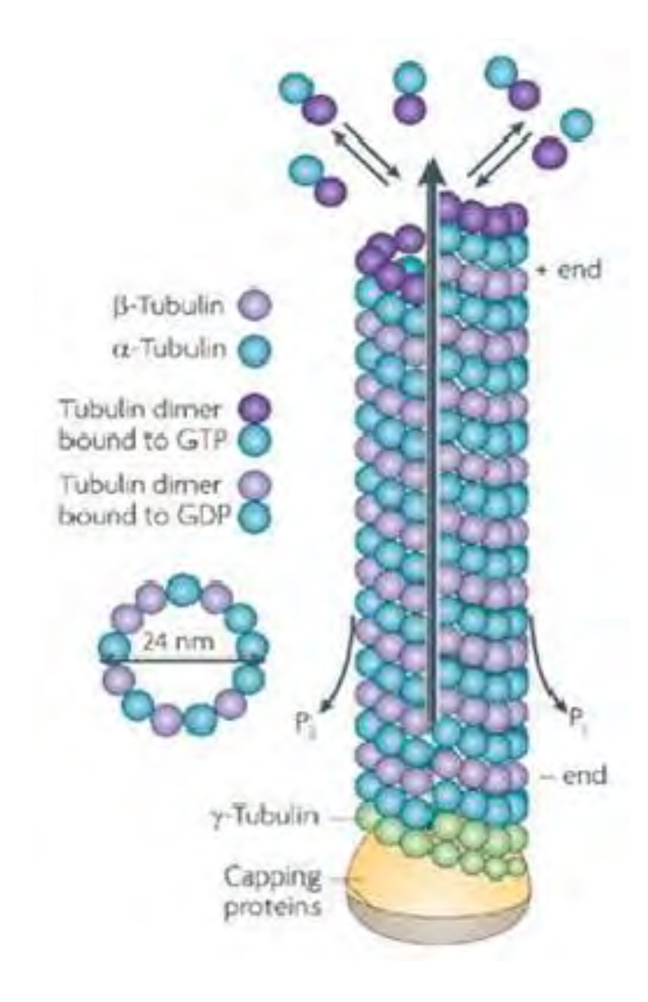
dirigée Vers le centre cellulaire

↓

Dépolymérisation (raccourcissement) rapide , polymérisation (allongement) lente

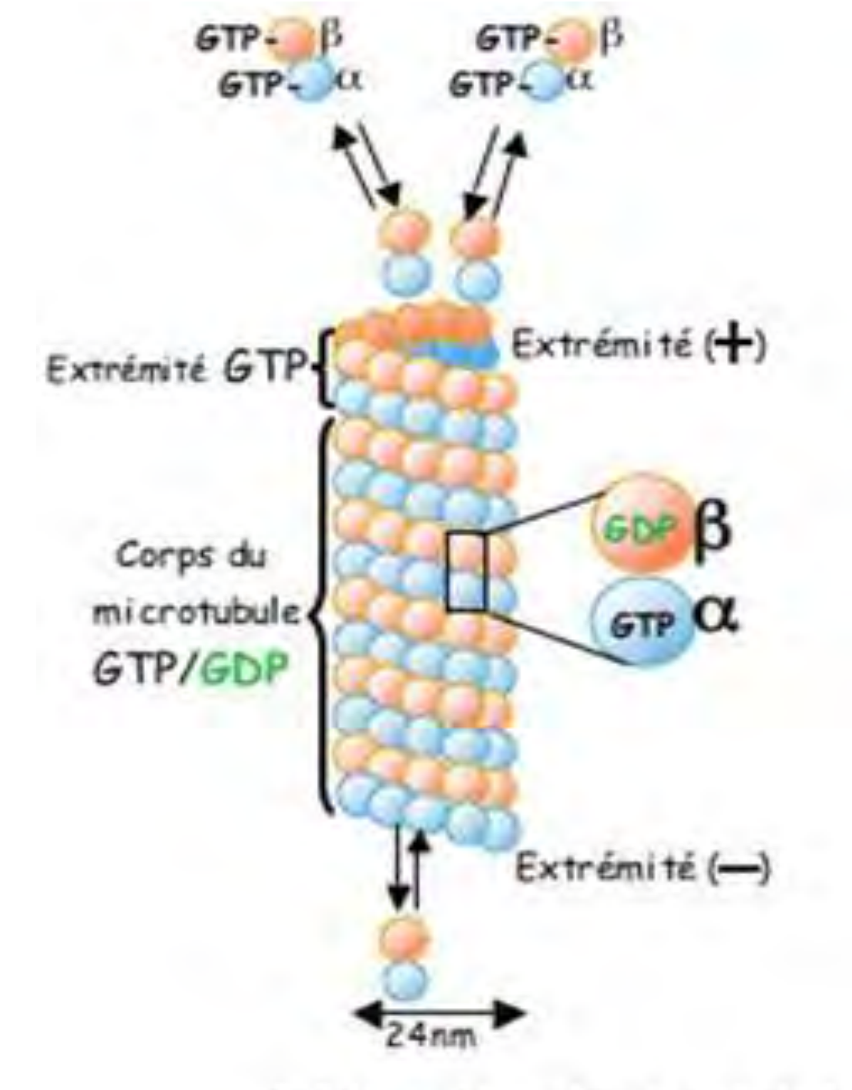
In vivo: l'extremité (-) est stabilisée par les protéines d'insertion et l'anneau TuRC

L'anneau de tubuline γ et selon les besoins physiologiques peut se détacher sous l'effet de certaines protéines associées



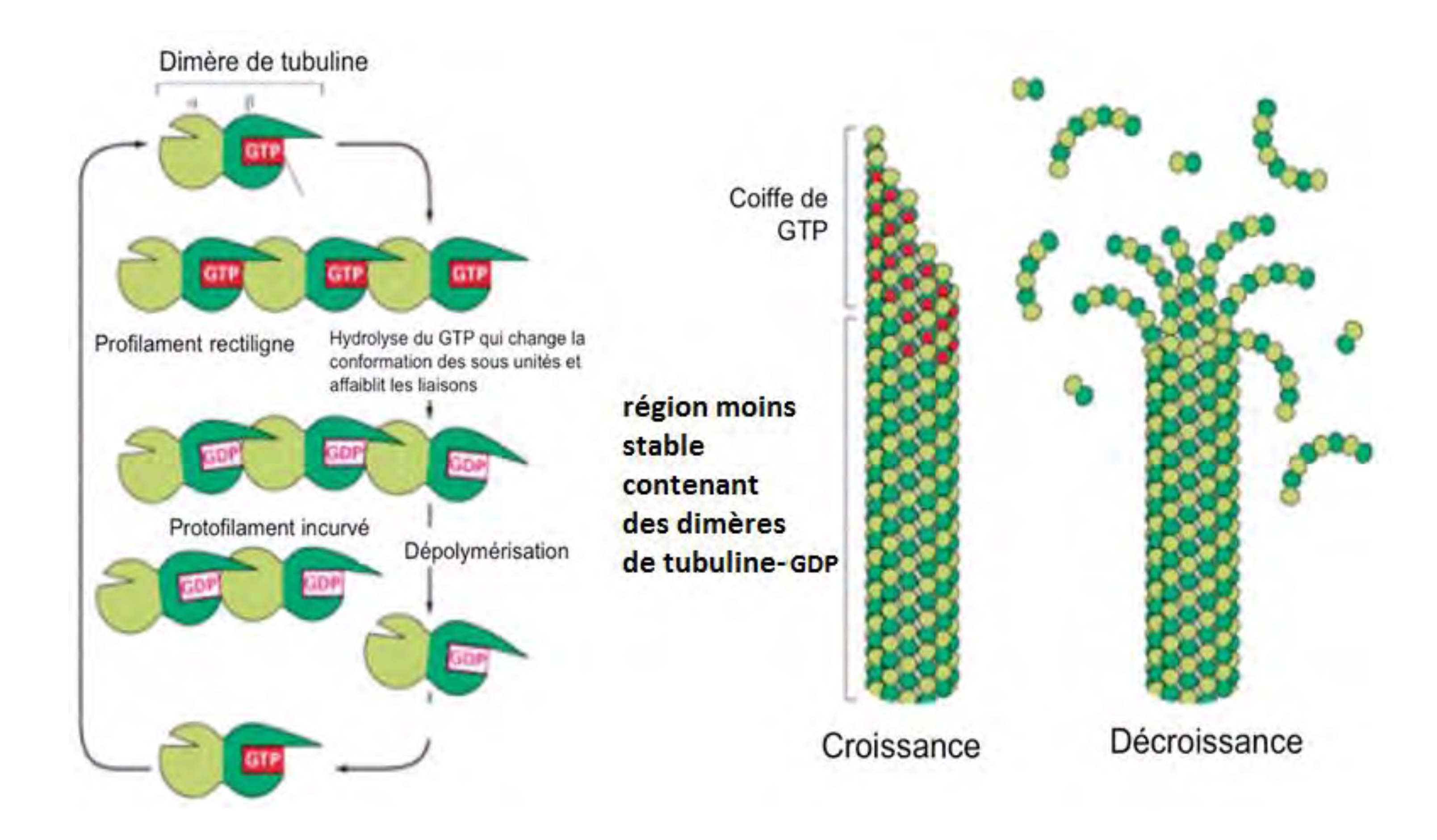
La tubuline β joue le rôle d'une enzyme GTP asique et hydrolyse son GTP en GDP

A la suite de cette hydrolyse le MT aura un corps GDP

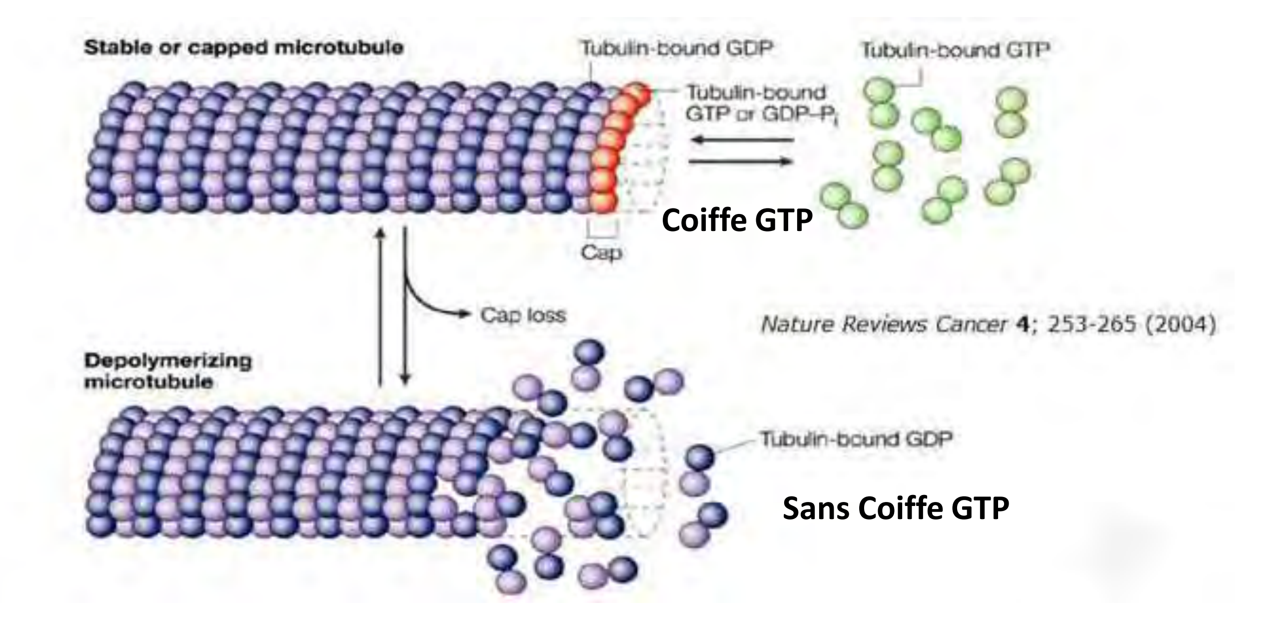


3-Elongation du microtubule

Selon la concentration intracellulaire en tubulines et GTP, un MT labile peut être avec coiffe GTP ou GDP



La persistance de la coiffe GTP à l'extrémité (+) favorise la polymérisation du MT alors que sa perte (hydrolyse en GDP) entraine la dépolymérisation

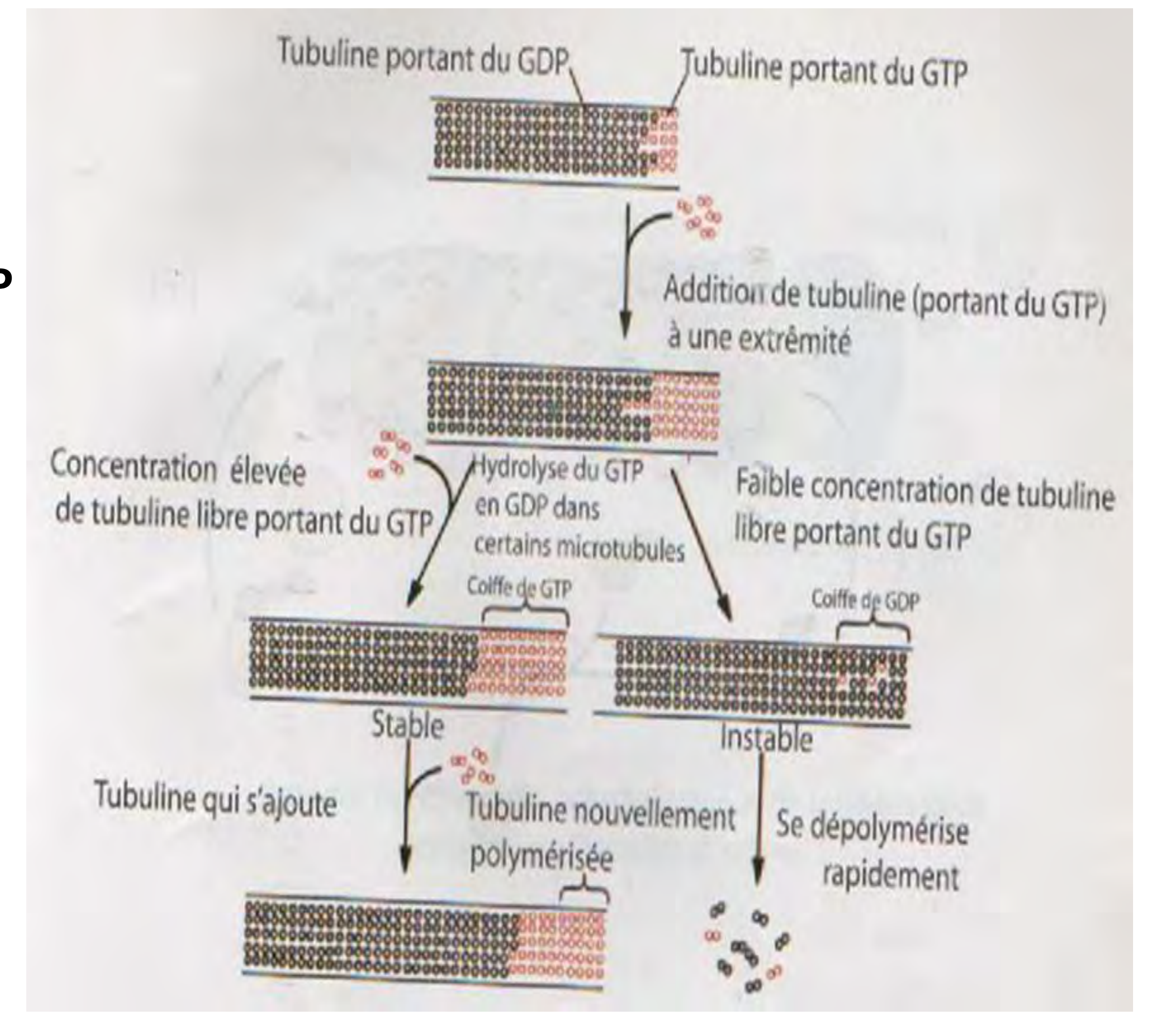


Les paramètres contrôlant la polymérisation et dépolymérisation du MT

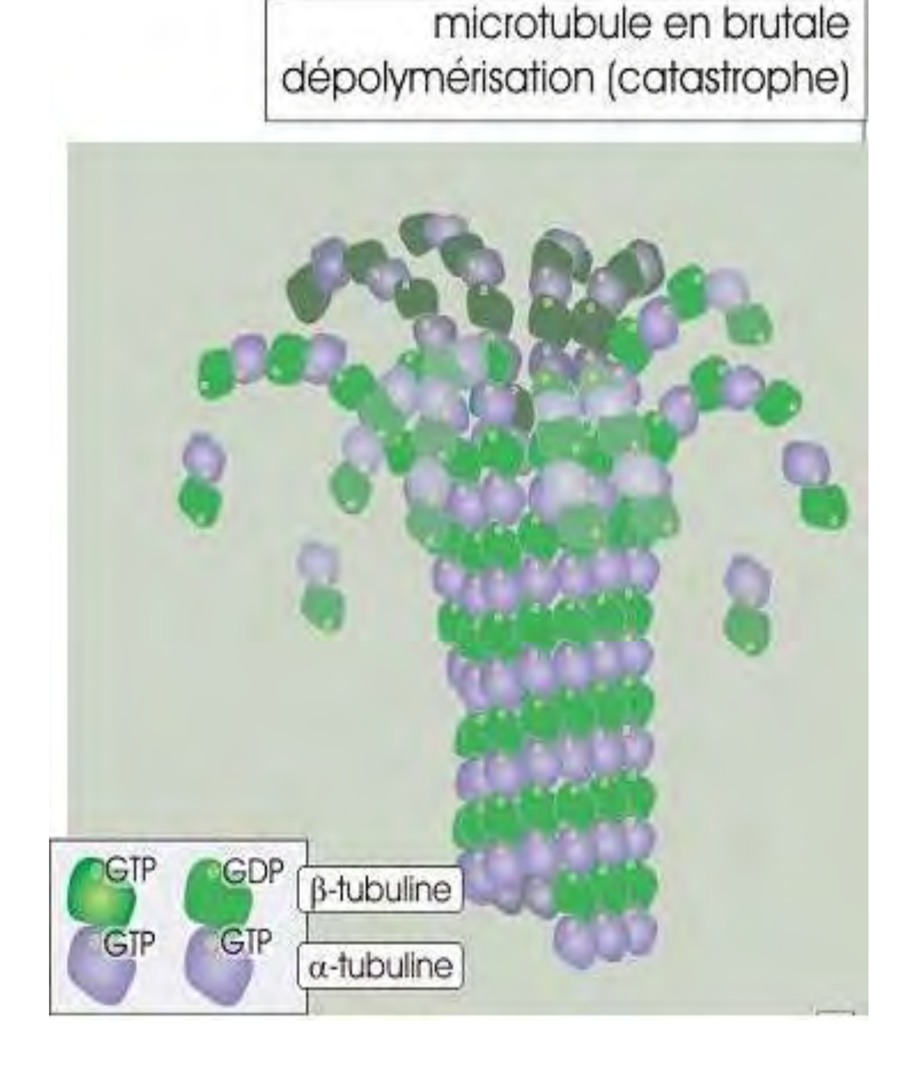
- Un pool de tubuline β libre avec une forte concentration en GTP induisent une polymérisation rapide et présence d'une coiffe GTP

- Une faible concentration en tubuline libre et GTP induisent une coiffe GDP et donc une possibilité de dépolymérisation rapide

le terme stable ici veut dire: MT présent (maintenu)



Le MT peut se dépolymériser continuellement (concentration élevée en GDP) jusqu'à sa disparition (dépolymérisation en catastrophe).

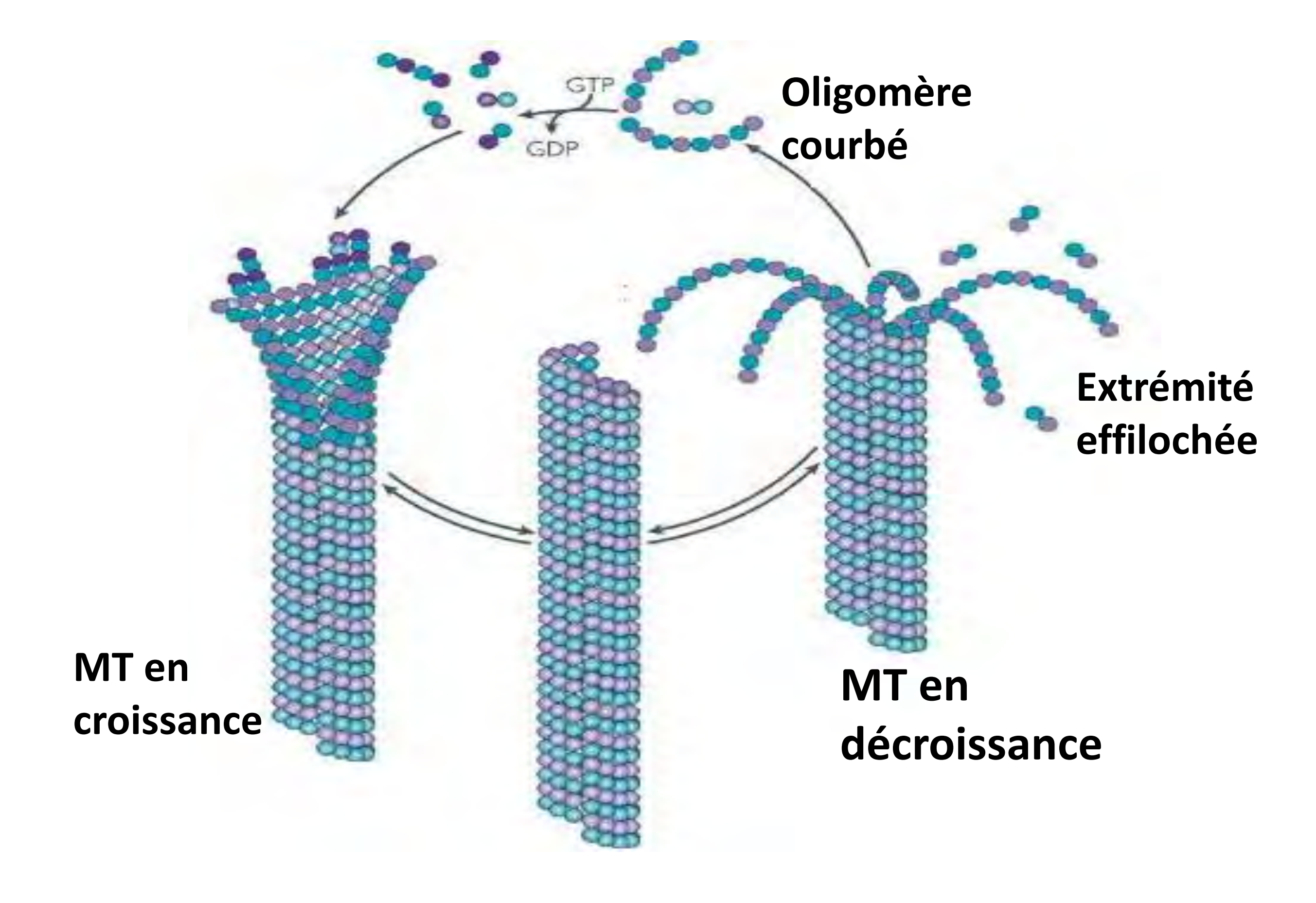


La persistance de groupes de tubulines β- GTP dans le corps du microtubule permet son sauvetage

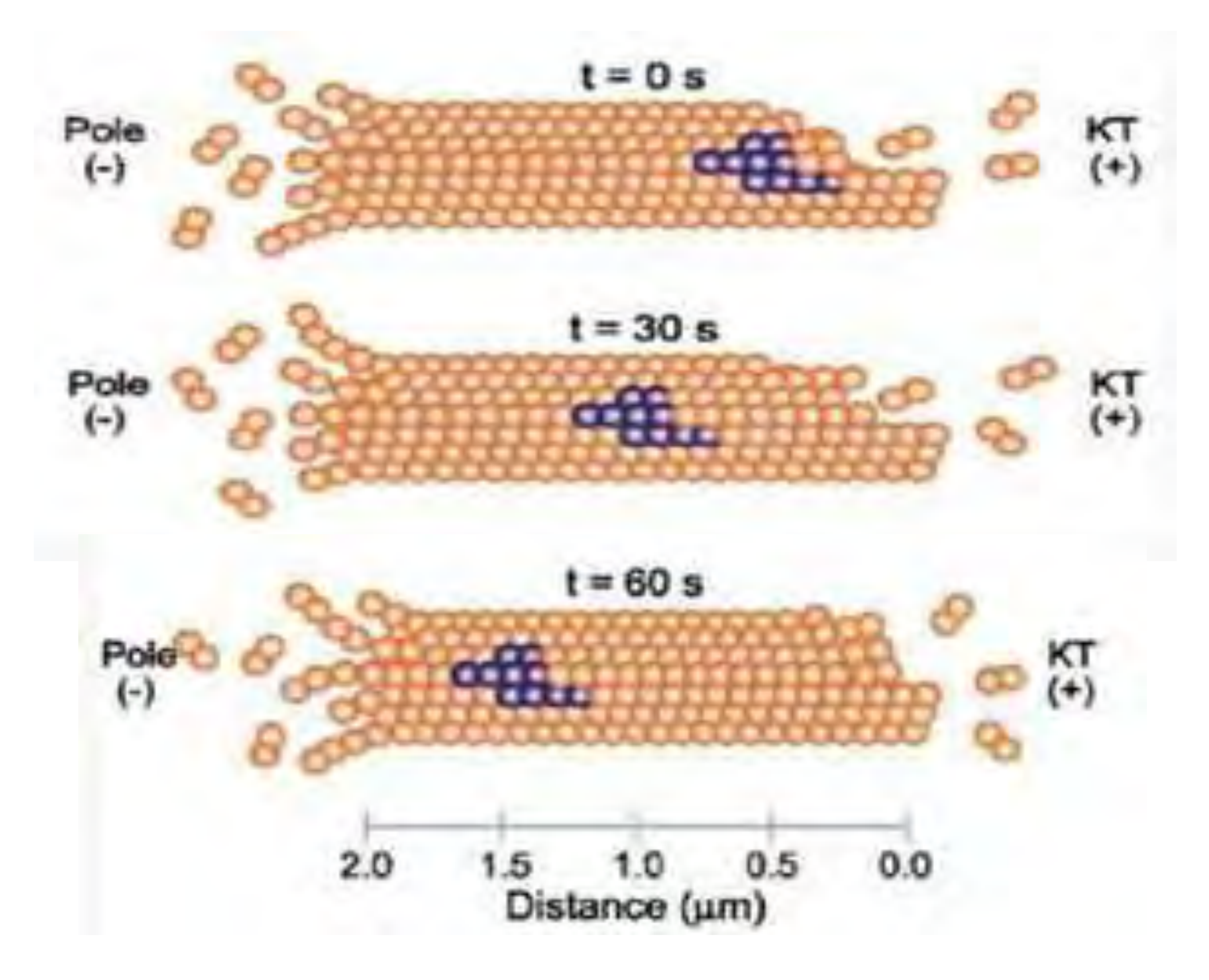


Cycle de la dynamique des microtubules

Les MT passent par des phases de polymérisation et des phases de dépolymérisation. Ils constituent donc un réseau dynamique.
Leur longueur varie au cours des mécanismes de biomotilité



La dynamique des MT se déroule selon le modèle de tapis roulant



Cette dynamique a été mise en évidence in vitro par marquage de dimères de tubulines.

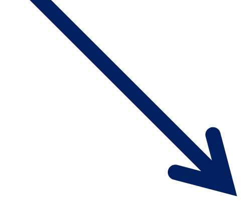
Association aux protéines intracellulaires/protéines associées

Les protéines s'associant aux MT (MAPs) Interviennent dans :

- **Leur arrangement**
- **Le contrôle de leur dynamique**
- **Le transport intracellulaire**







MAP structurales

MAP motrices





Contrôle de la dynamique des MT

Arrangement intracellulaire des MT

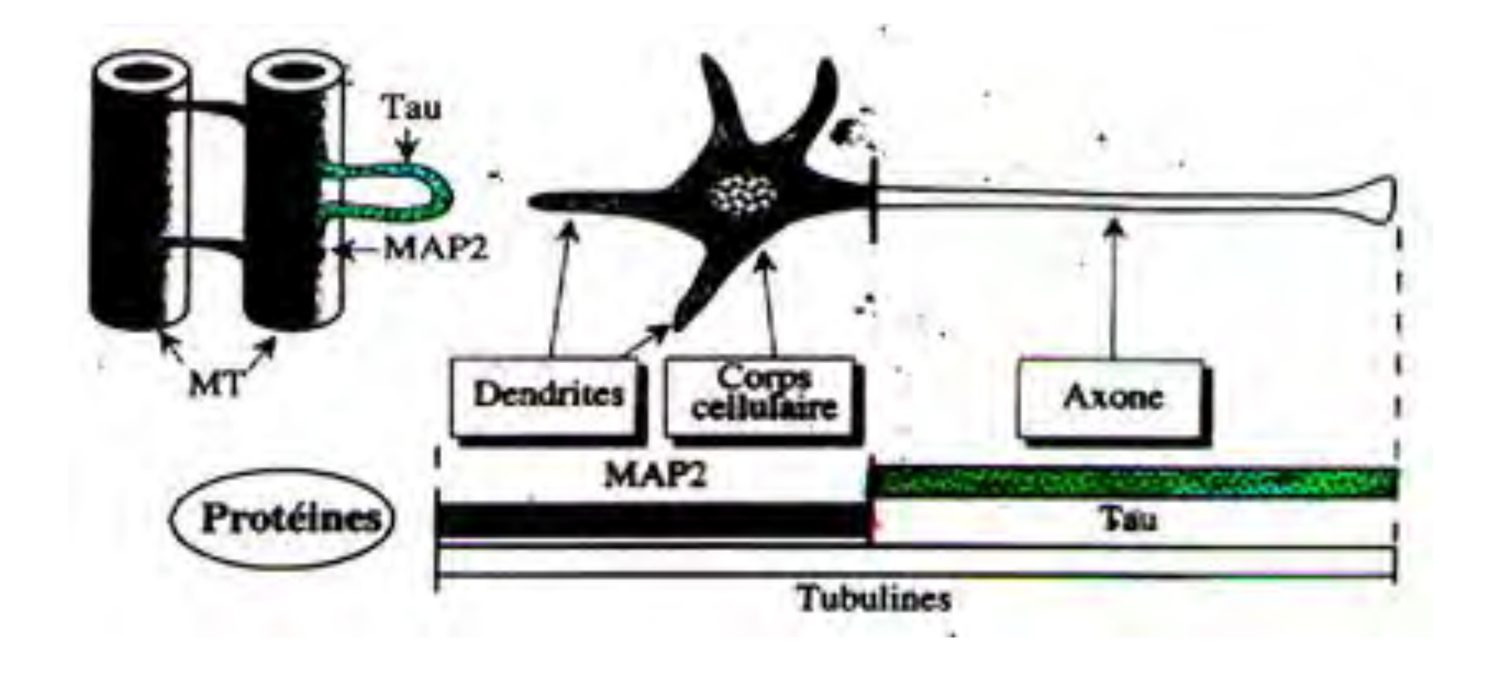
Pour le déplacement des organites , vésicules…..sur les MT

MAP structurales

Localisation des MAP structurales

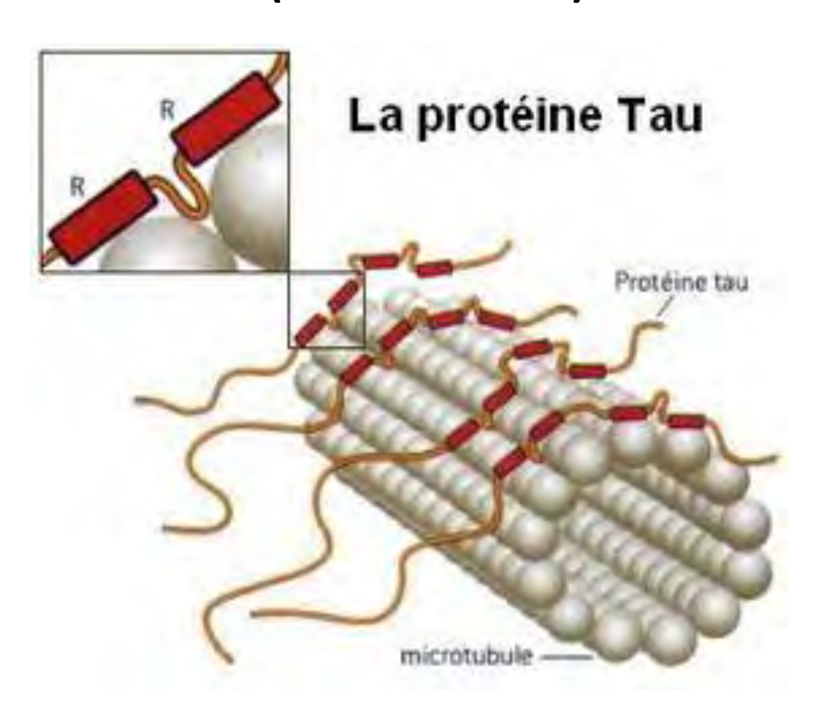
(page 16)

MAP 2 des neurones dans les dendrites et corps cellulaire et Tau au niveau de l'axone

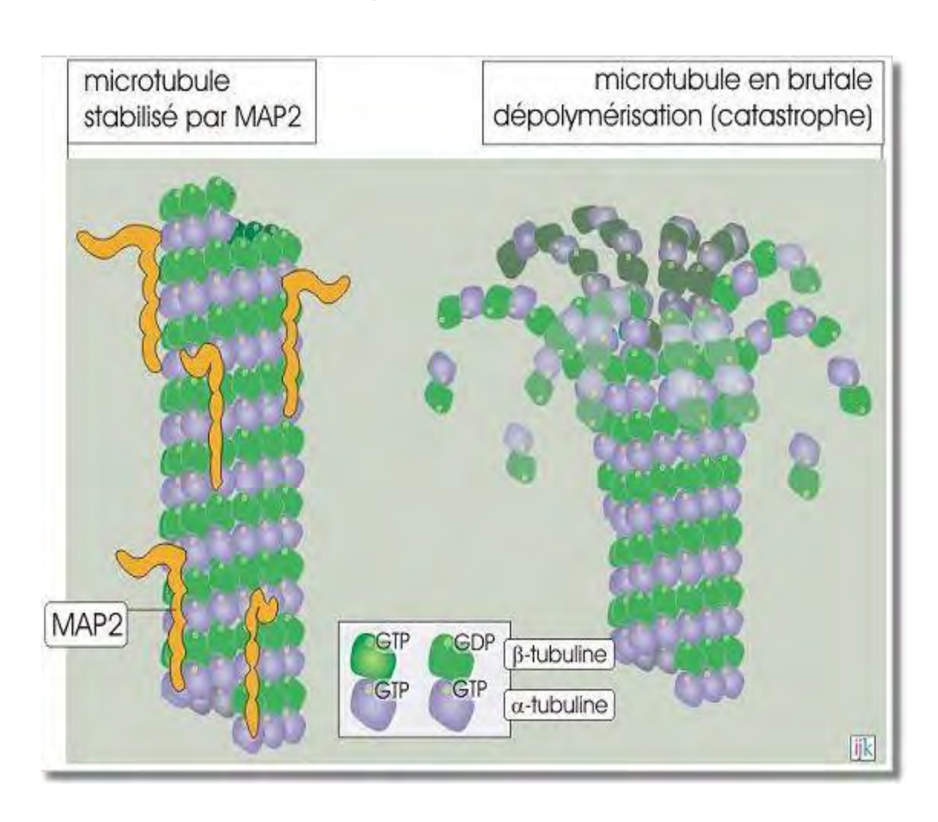


Interactions des protéines structurales avec les microtubules

La protéine Tau organise et stabilise la structure des MT axonaux (Neurotubules)



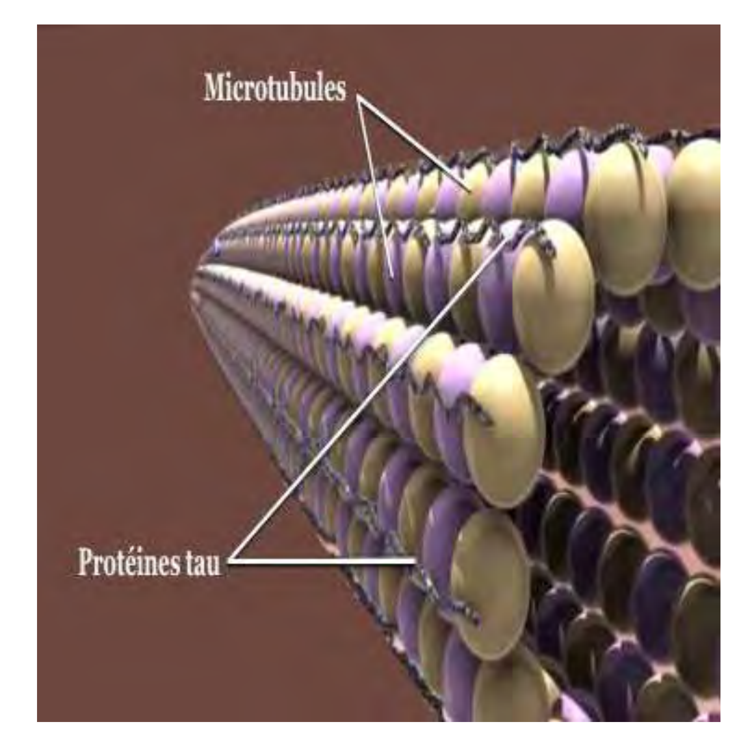
Les MAP2 Stabilisent les faisceaux de MT et leur perte déstabilise les MT



Les MAP4 des autres cellules agissent comme les MAP2 des dendrites : stabilisation et agencement des MT en faisceaux

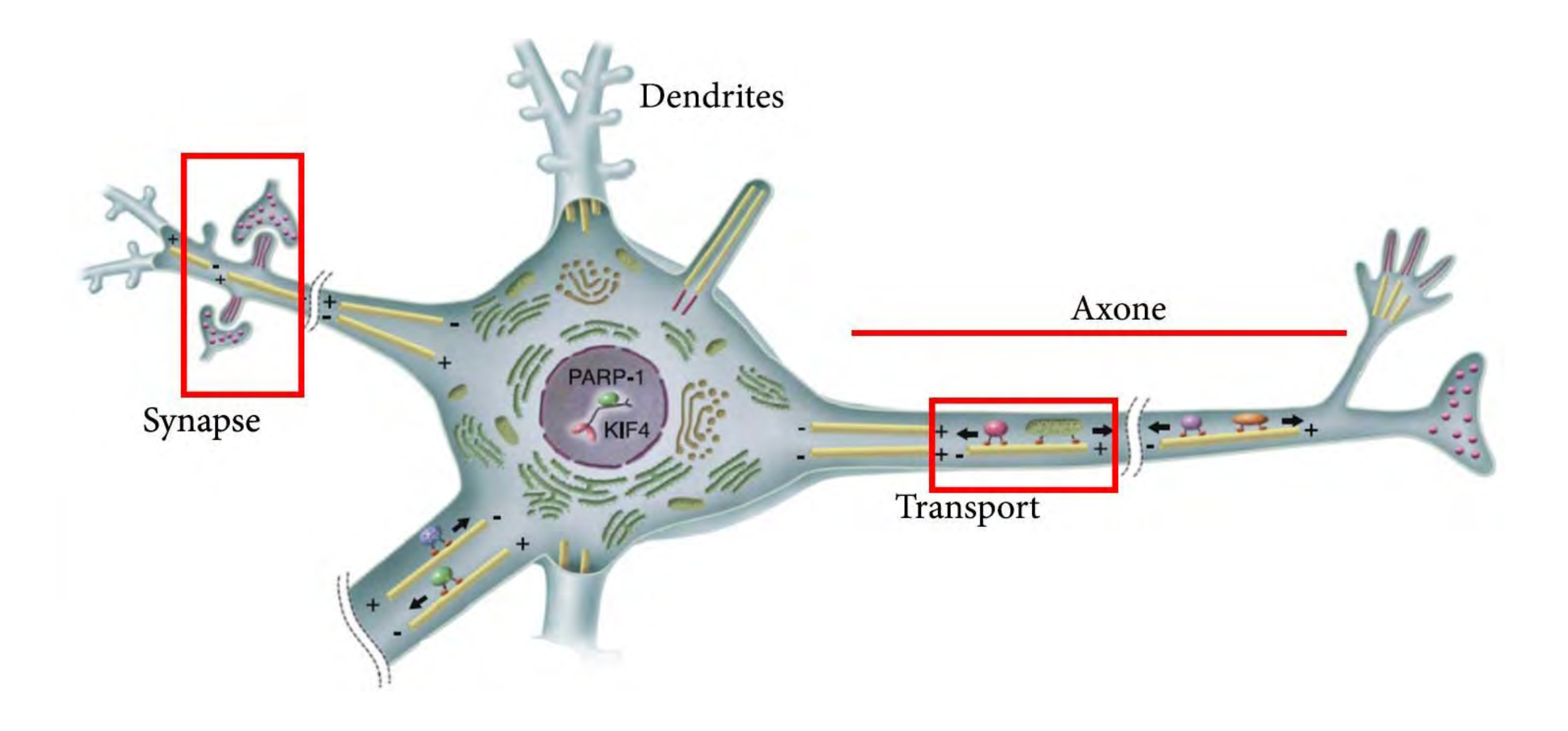
La stabilisation des MT axonaux assure :

- **Le maintien de la longueur de l'axone**
- **Sa communication synaptique avec un autre neurone**
- **Le transport des vésicules synaptiques**

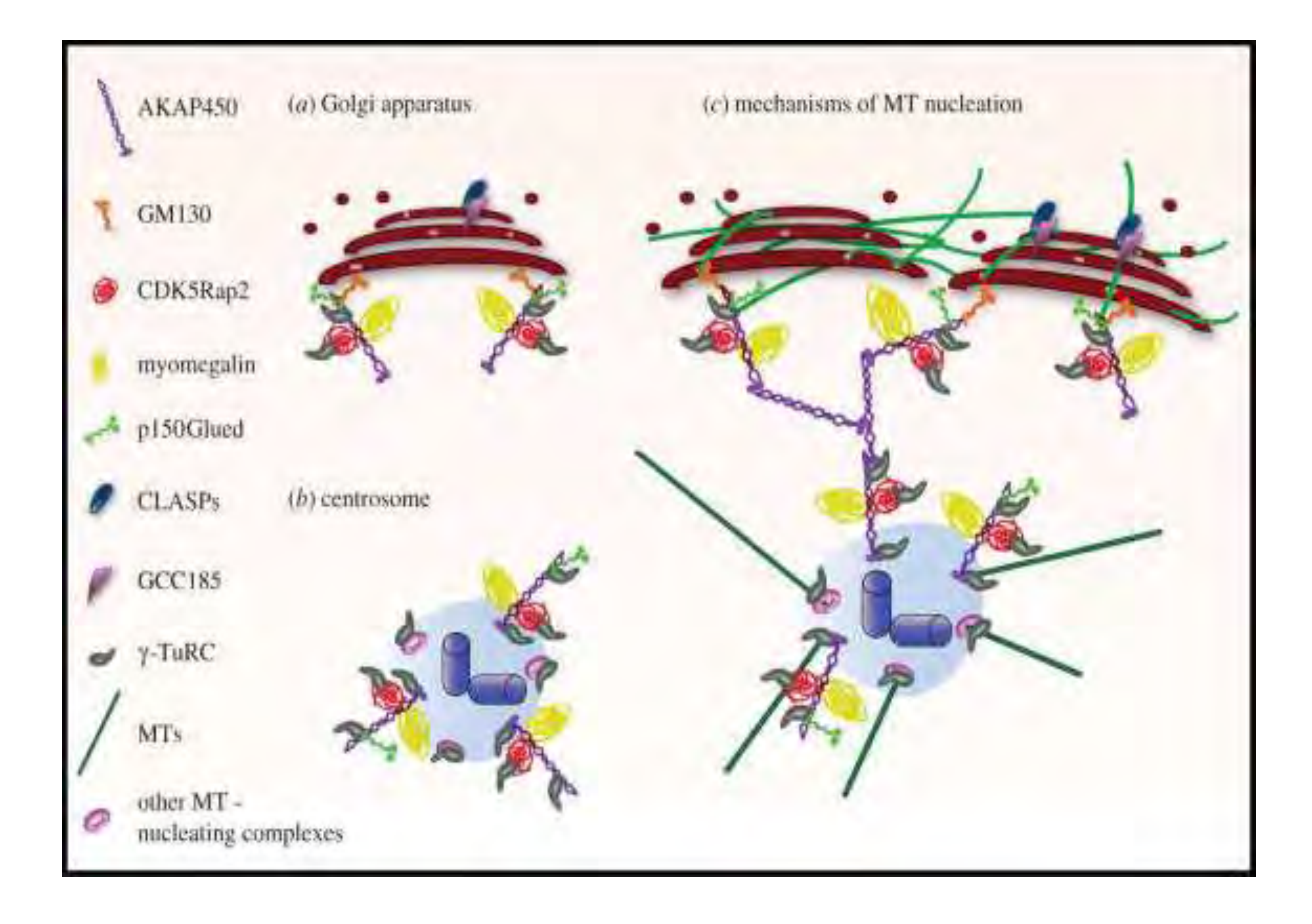


Les tau recouvre les monomères de chaque protofilament empêchant sa dépolymérisation

Transport des vésicules synaptiques dans l'axone du neurone



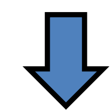
La stabilisation des MT permet le maintien de la structure des dictyosomes golgiens



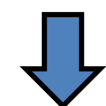
Maladie d'alzheimer
(maladie neuro- dégénérative)

L'altération de la protéine Tau est à l'origine de la maladie d'alzheimer

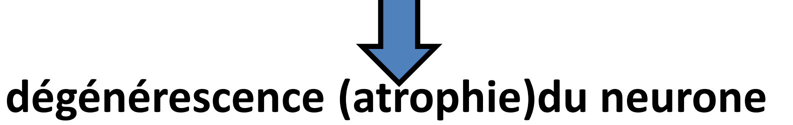
Hyper phosphorylation des protéines Tau et leur détachement des MT



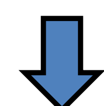
Formation d'amas de protéines Tau



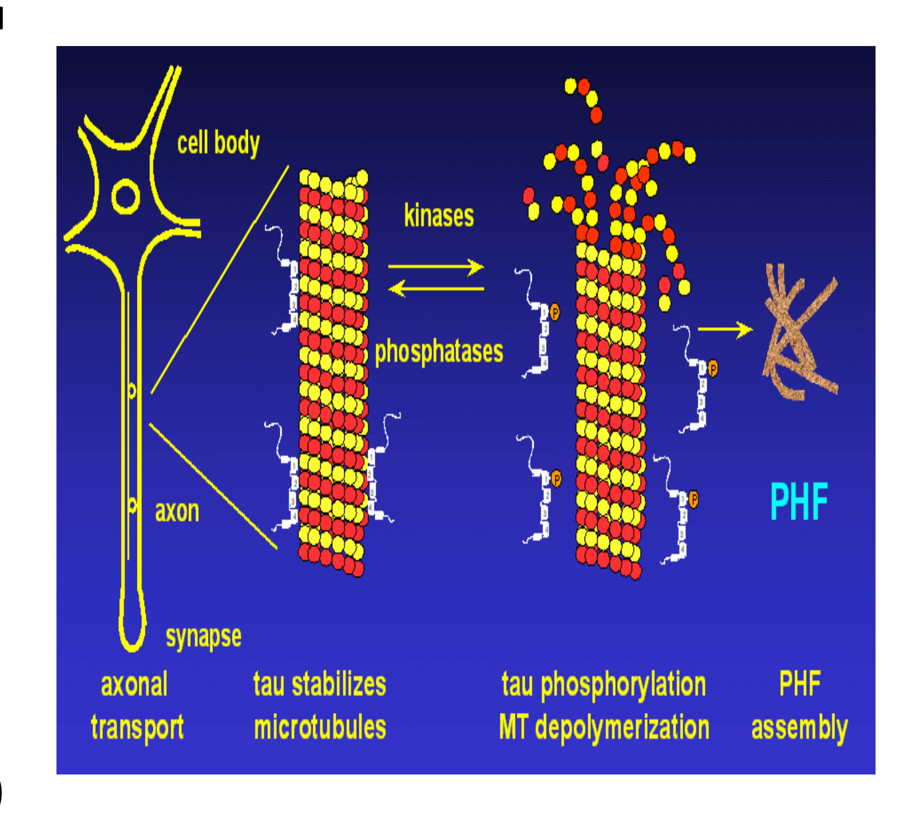
déstabilisation et désintégration des MT



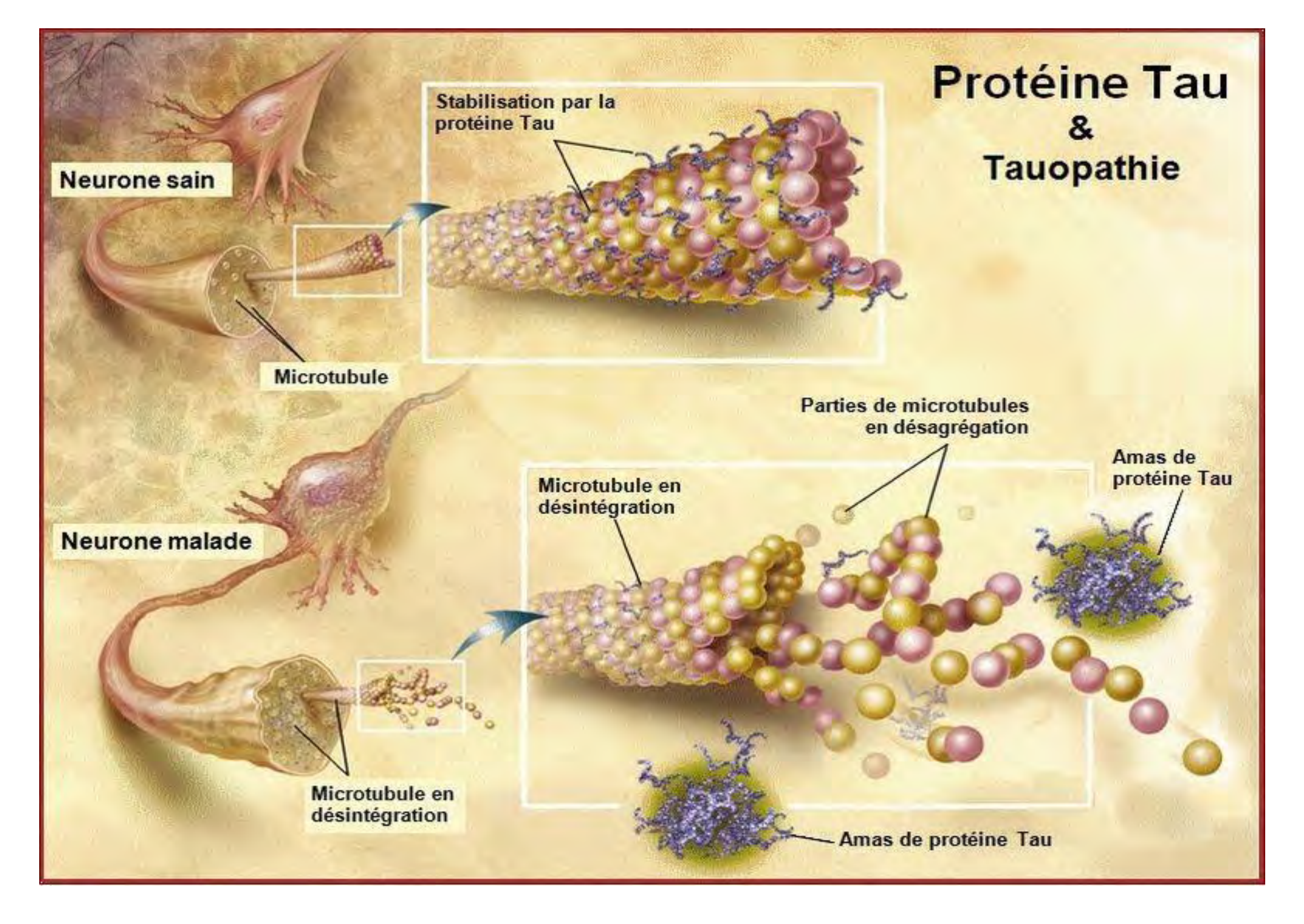
dégénérescence (atrophie)du neurone



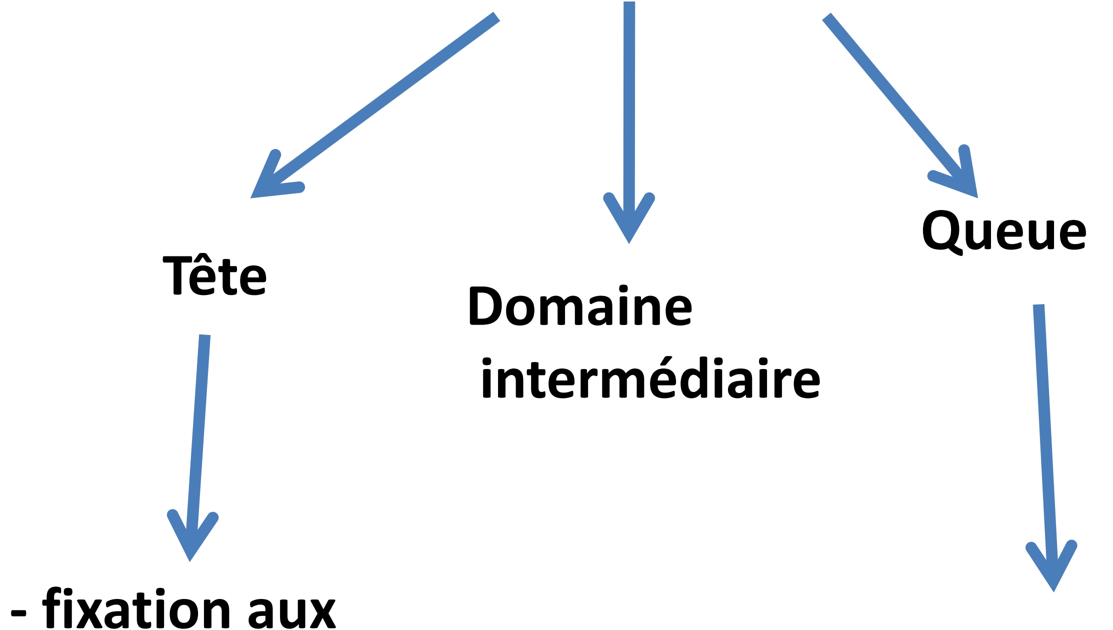
maladie d'alzheimer (perte de mémoire…..)



État des MT chez une personne normale et une personne atteinte de la maladie d'alzheimer

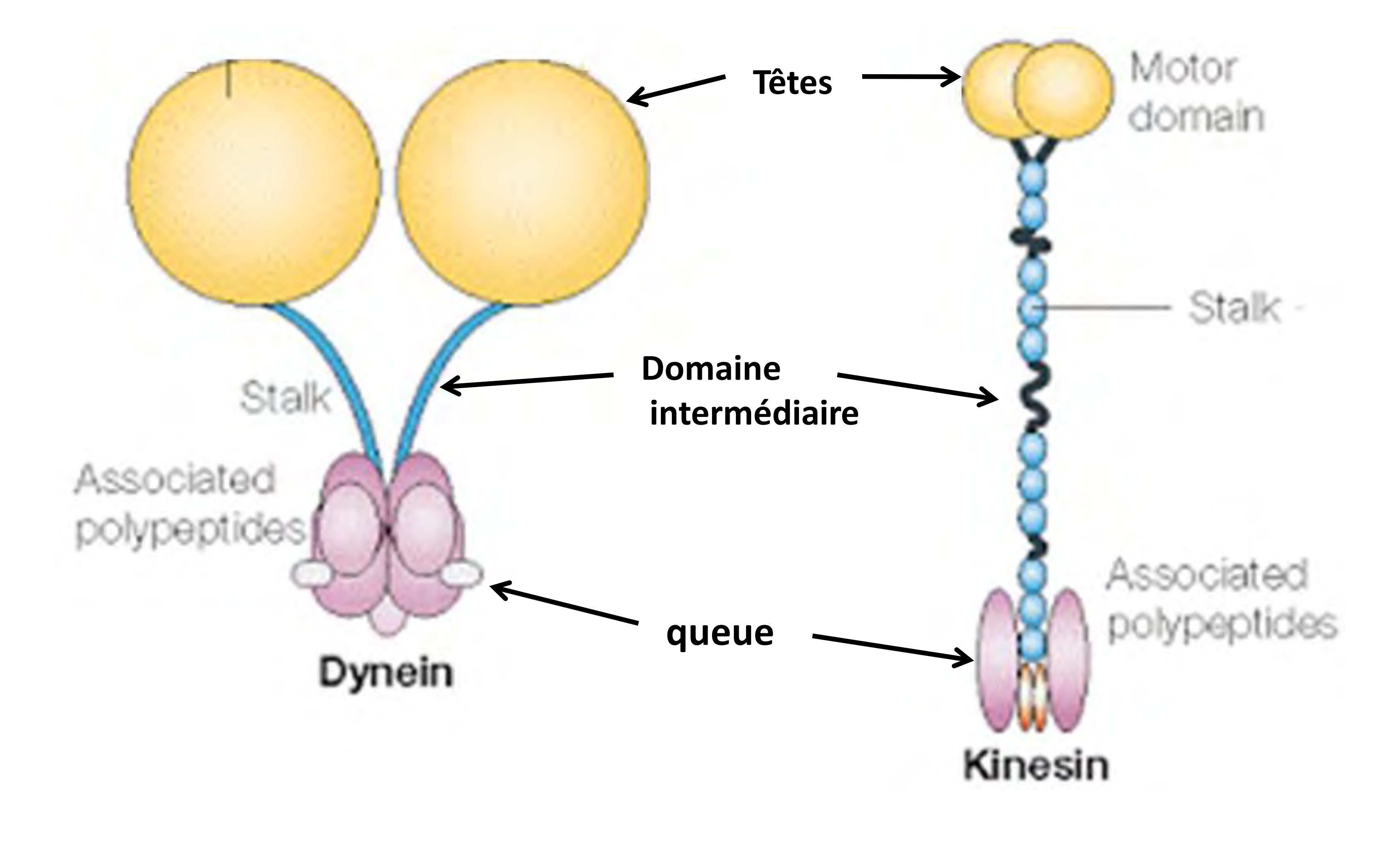


Structure des MAPs motrices

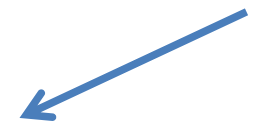


- fixation aux tubulines du MT
- hydrolyse d'ATP

fixation à la membrane d'un compartiment

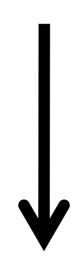

Têtes
Motor domain
Stalk
Domaine intermédiaire
Stalk
Associated polypeptides
queue
Associated polypeptides
Dynein
Kinesin

MAPs motrices



Dynéines

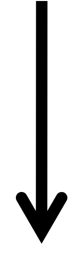
Transport de la périphérie vers le centre cellulaire



- Endocytose
- Transport rétrograde (dans l'axone)

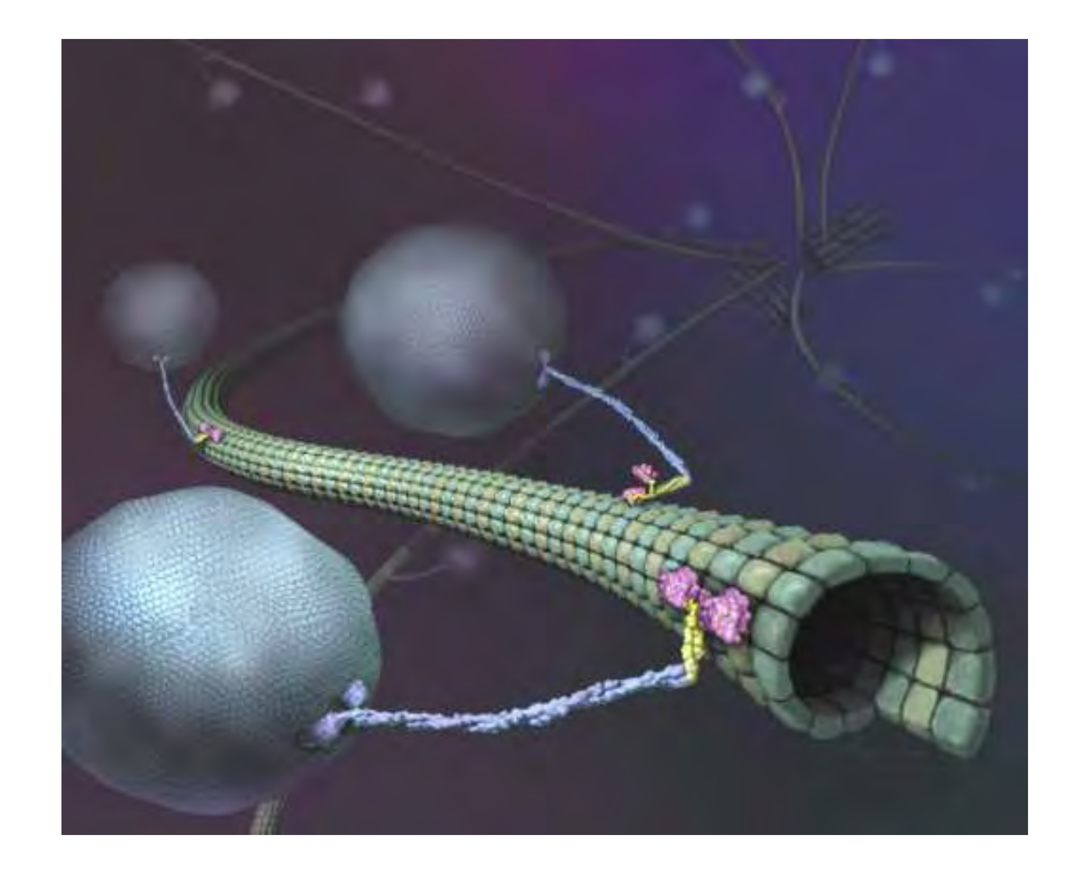
Kinésines

Transport du Centre vers Périphérie cellulaire

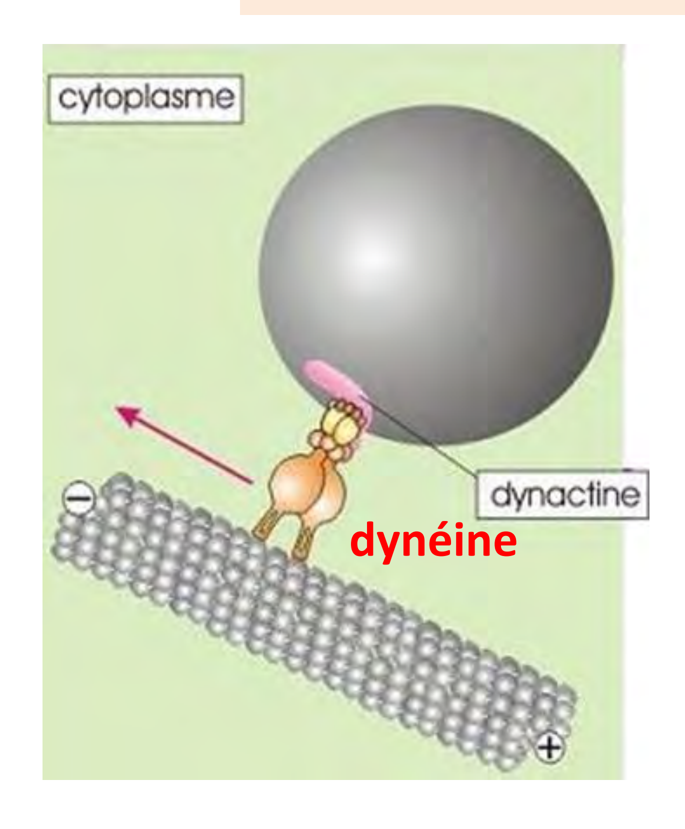


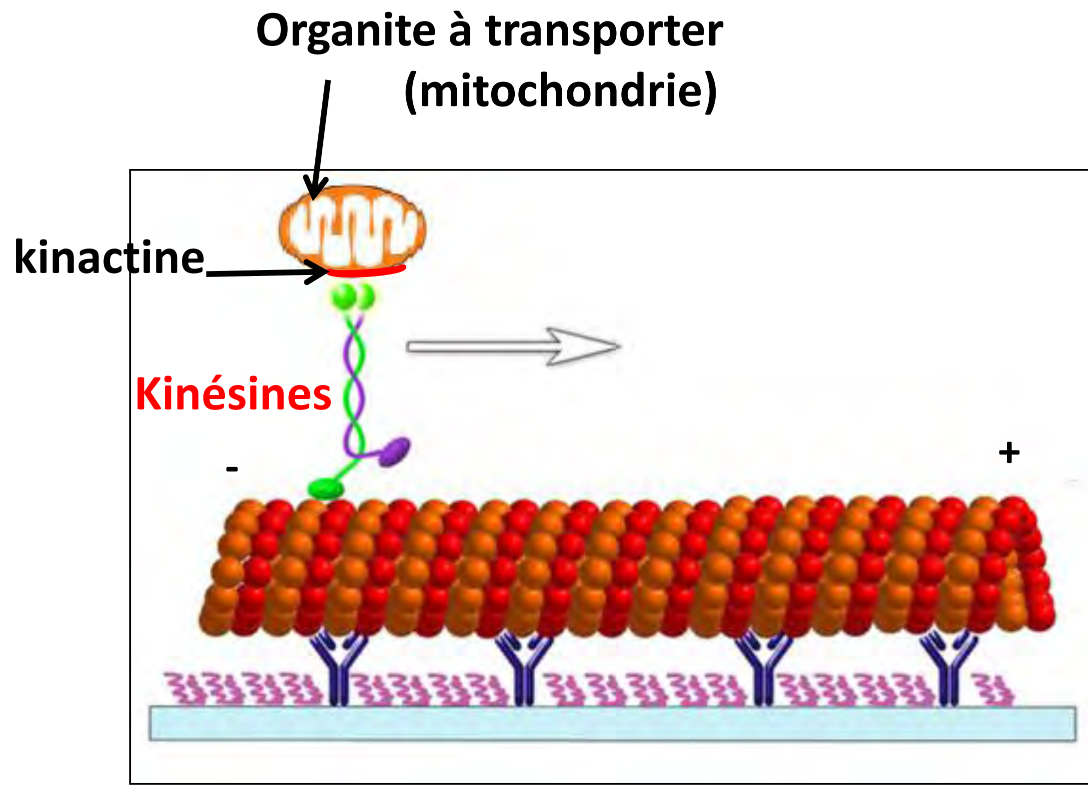
- Exocytose
- Transport antérograde (dans l'axone)

Les MT forment des rails le long desquels sont transportés différents types de cargos (vésicules, organites , ARN, et complexes protéiques grâce à ces moteurs moléculaires: kinésines et dynéines

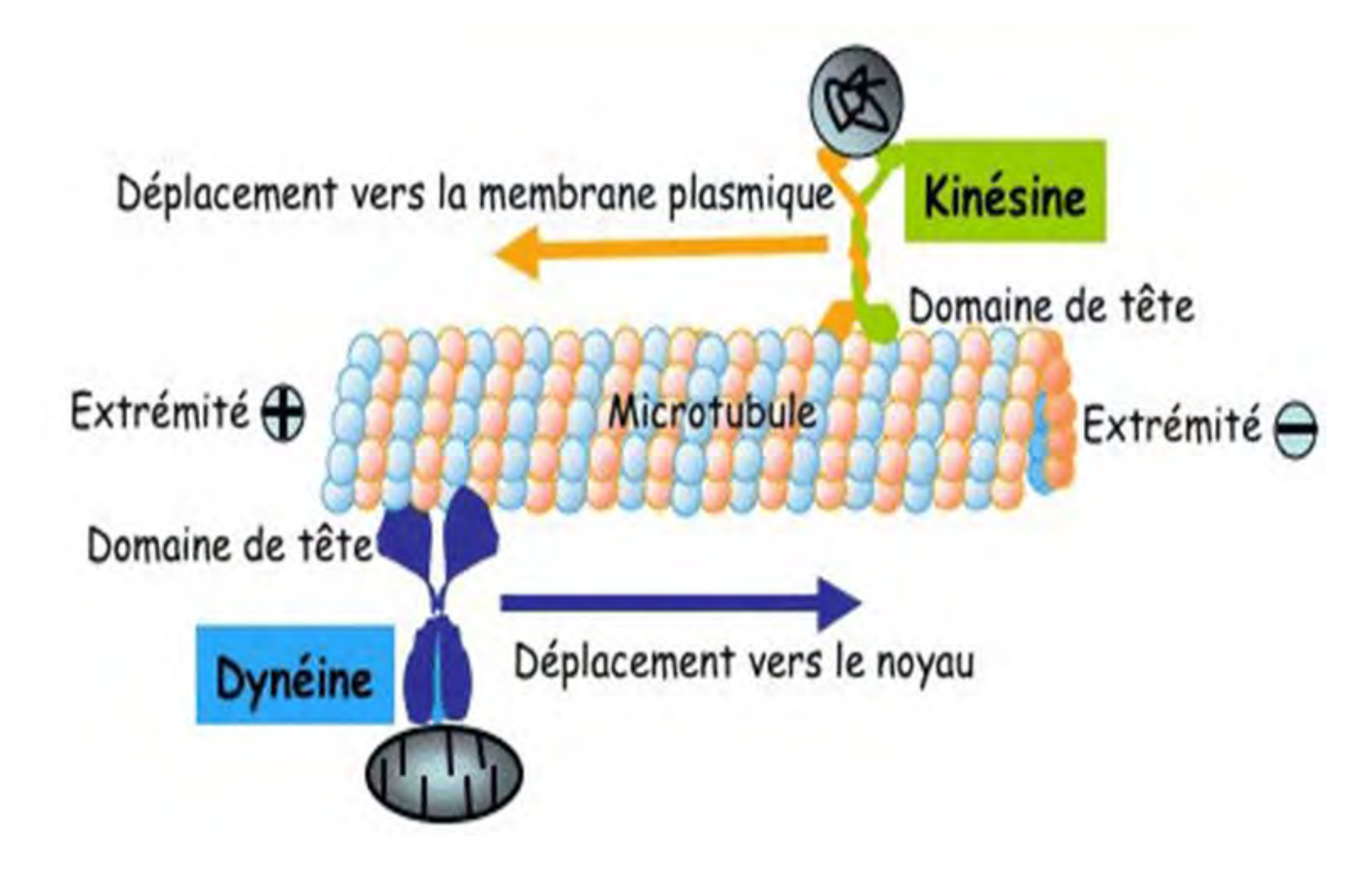


Protéines motrices associées aux microtubules



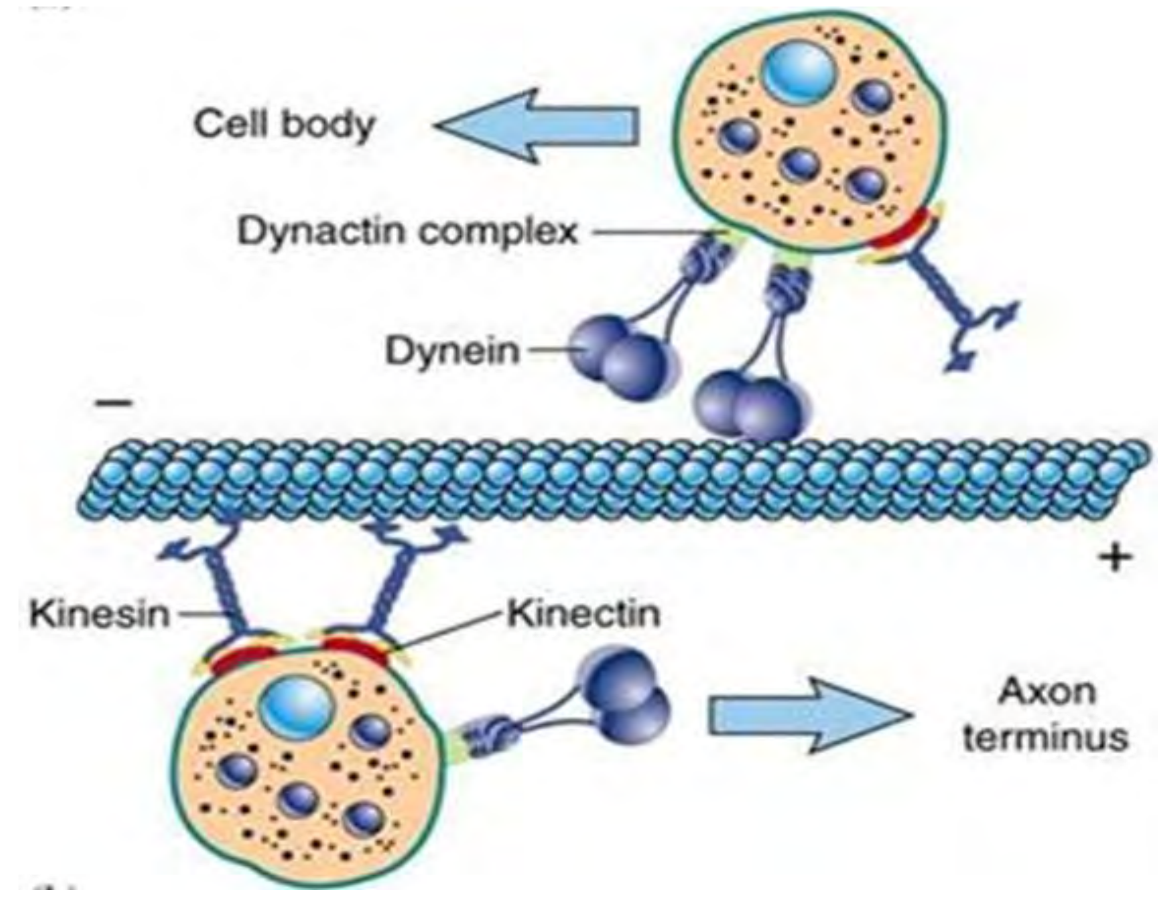


La kinésine et dynéine assurent des transports orientés dans des sens opposés

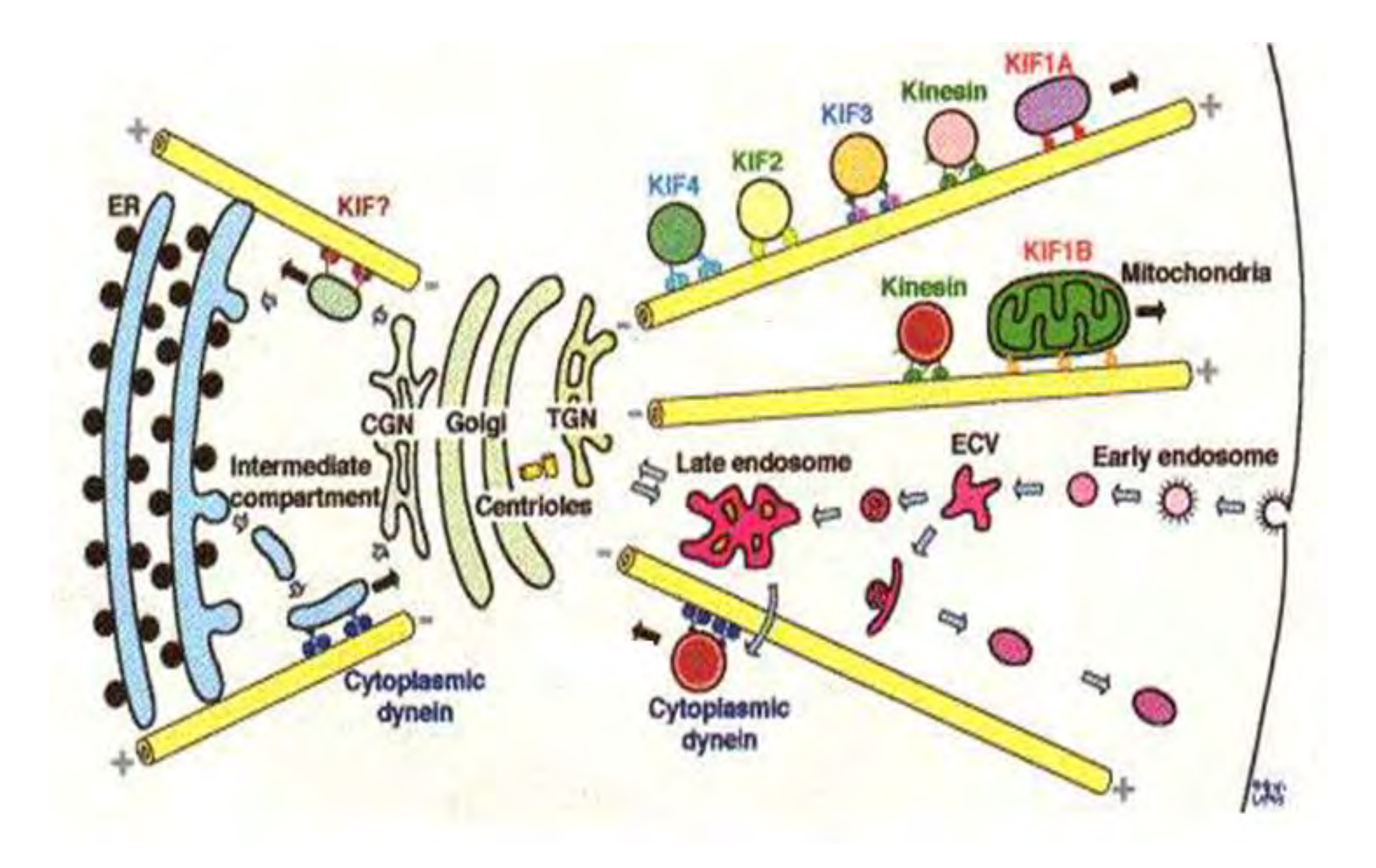


Interactions des MAP motrices avec le microtubules

- les queues des kinesines interagissent avec les membranes des organites par la Kinactine
- Les queues des dynéines intéragissent avec les membranes des organites par la dynactine



Intervention des MAPs motrices dans le trafic vésiculaire intracellulaire utilisant les MT



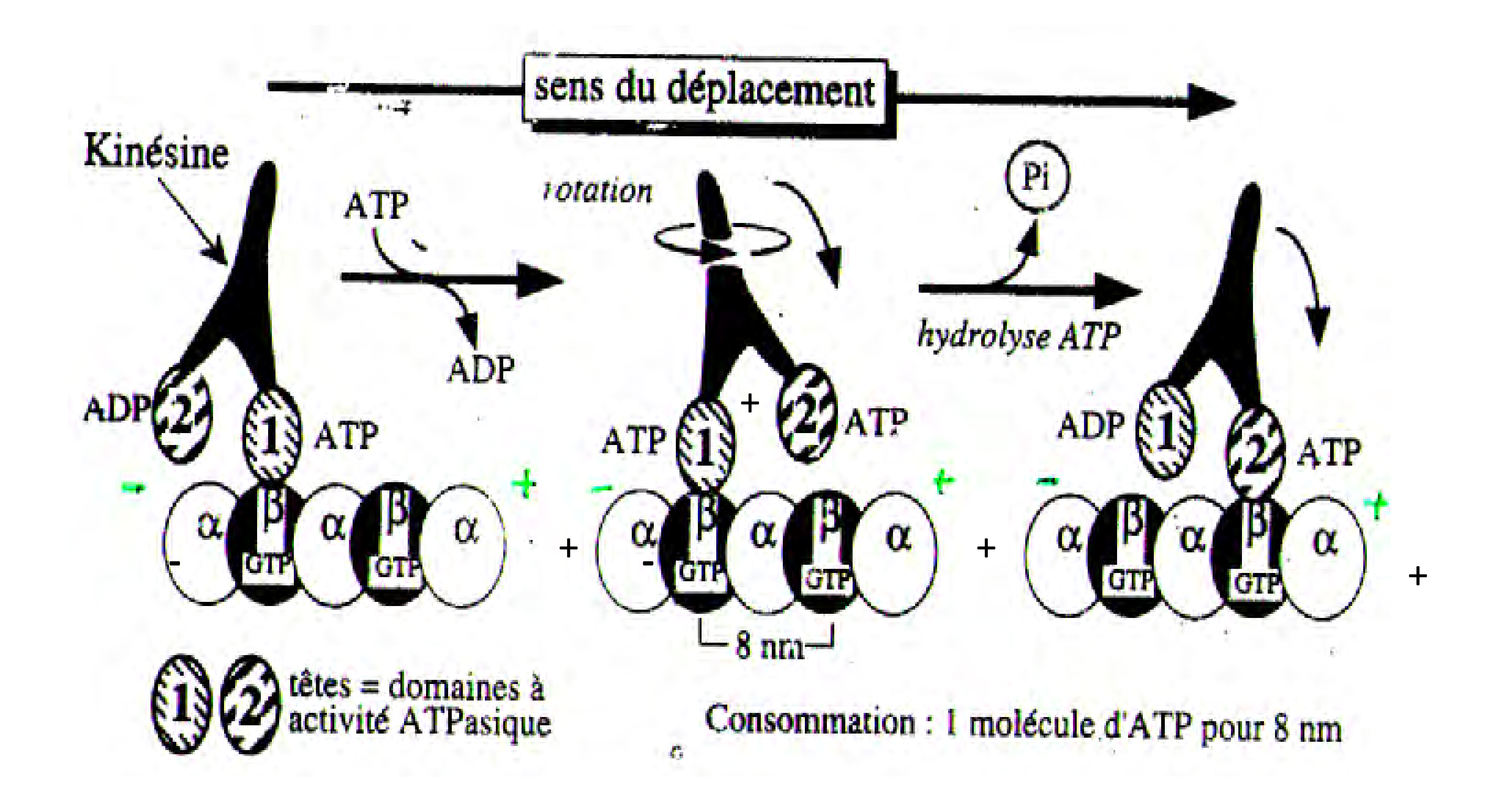
Déplacement de la kinésine à la surface du MT

1[e] –échange d'ADP en ATP par la tête 2

2-demi rotation de la kinésine

3-hydrolyse d'ATP de la tête 1 en ADP et Pi
L'ADP prend la place de l'ATP au niveau de la tête 1 et le Pi
est libéré.
l'énergie de l'hydrolyse détache la tête 1 de la s/unité tubuline Béta et permet la fixation de la tête 2 à la s/unité suivante de Béta tubuline.

Le mécanisme de déplacement des têtes de la kinésine sur un protofilament de MT



Chaque pas est de 8 nm et consomme 1 molécule d'ATP

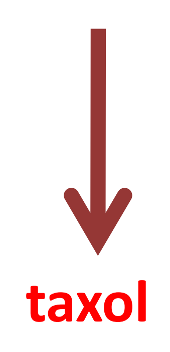
Sensibilité à des molécules exogènes : drogues

Drogues déstabilisatrices



Colchicine
Vinblastine
Vincristine

Drogues stabilisatrices



taxol

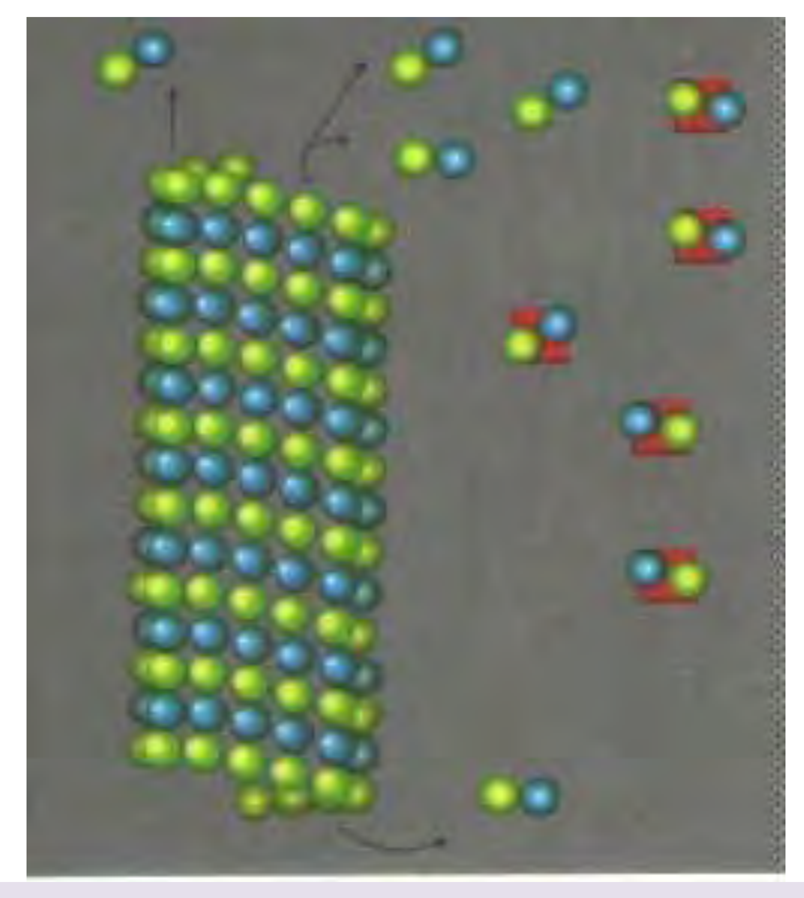
l'association de colchicine ou vinblastine au dimère de tubuline libre inhibe la polymérisation et provoque le raccourcissement progressif des MT



La colchicine : poison extrait de cette plante *: la colchique*



Vinblastine extraite de la pervenche de Madagascar



Interaction colchicine- dimères de tubuline

Séquestration des tubulines => inhibition de la polymérisation des MT à l'extrémité +

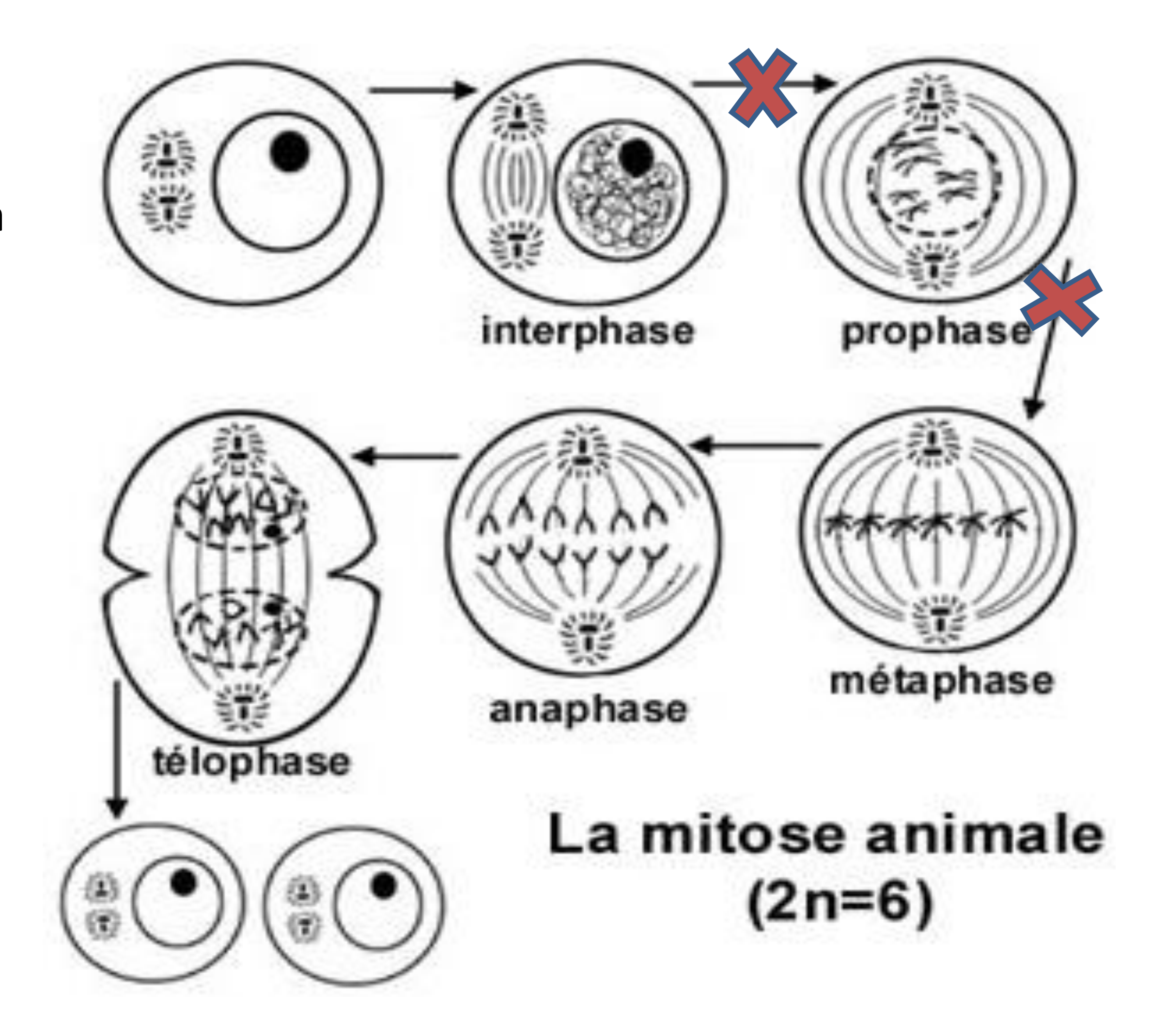
Effet sur les MT des cellules normales

La migration des chromosomes étant le résultat de la dynamique des MT et comme ces drogues perturbent la dynamique des MT ,elles exercent alors une action antimitotique.

Elles sont utilisées comme molécules anti-cancéreuses

La cellule cancéreuse ne peut plus poursuivre sa mitose après action de la colchicine (antimitotique)

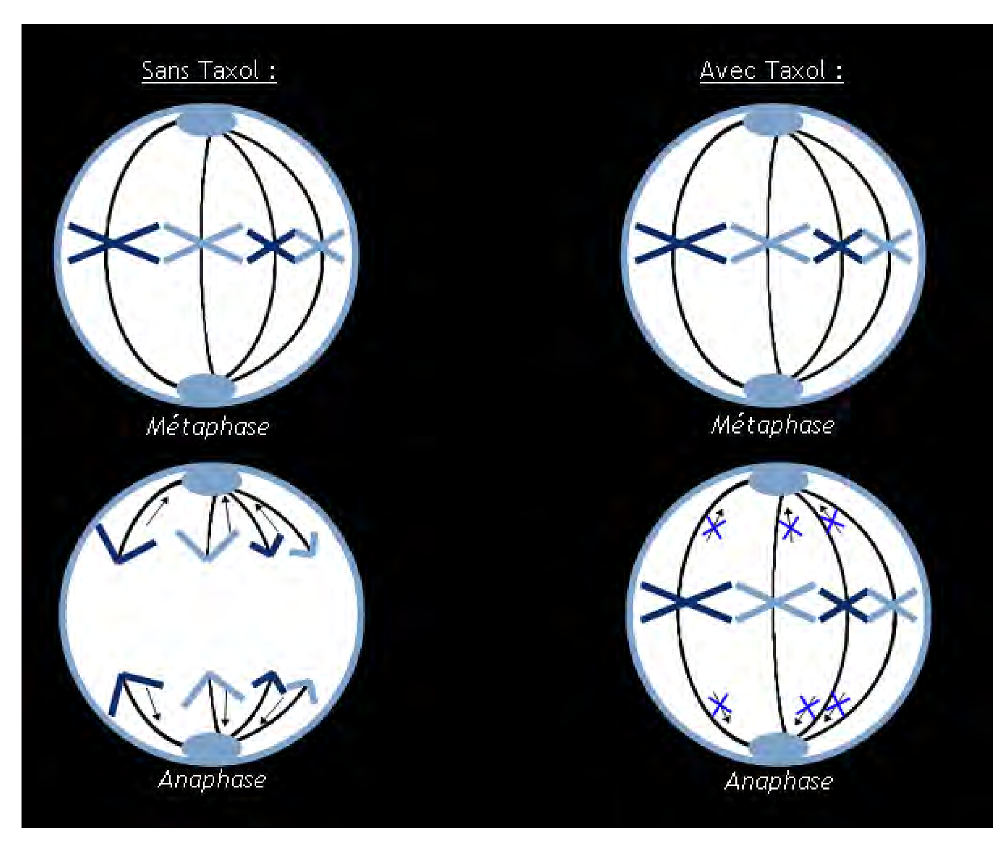
La colchicine empêche la cellule d'entrer en métaphase



La liaison latérale du taxol aux tubulines B polymérisées inhibe la dépolymérisation des MT et provoque leur stabilisation



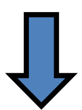
Le Taxol : molécule extraite de l'If du pacifique



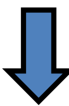
Cycle cellulaire d'une cellule cancéreuse qui ne poursuivra plus sa mitose après action du taxol. Ce dernier empêche le déroulement de l'anaphase

En thérapeutique humaine , ces drogues sont utilisées comme médicaments anti cancéreux.

addition d'une combinaison : colchicine + taxol



Pas de formation du fuseau mitotique et pas de migration chromosomique



inhibition de la multiplication des cellules cancéreuses

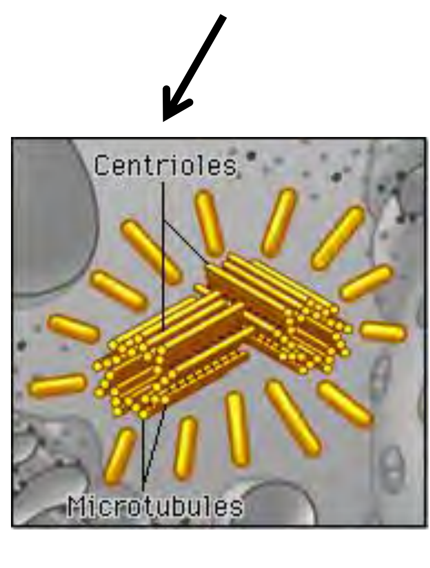
L'action conjuguées de la Colchicine et du taxol empêche la progression de la mitose ce qui permet de réduire la masse de la tumeur.

2. LES MICROTUBULES STABLES

Définition

- **Structures complexes et permanentes**
- **De morphologie et de dimensions constantes**

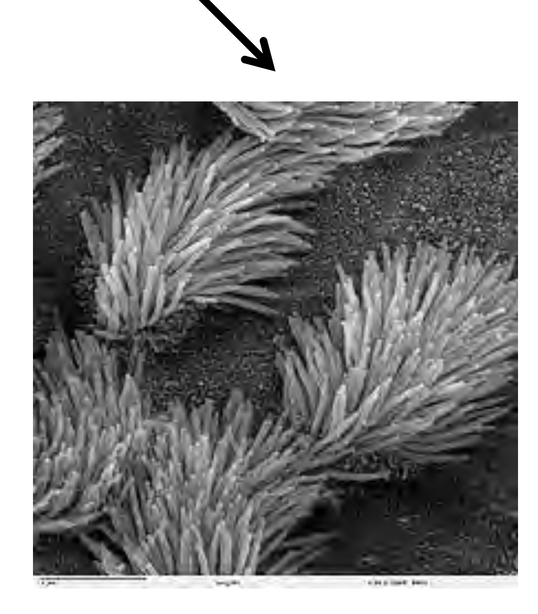
Les microtubules stables s'organisent en structures complexes localisées dans les :



centrioles



Flagelles (flagelle du spermatozoïde)



Cils (cils de l'épithélium respiratoire

Structure du diplosome



Les deux centrioles (diplosome) de la cellule sont disposés perpendiculairement l'un à l'autre

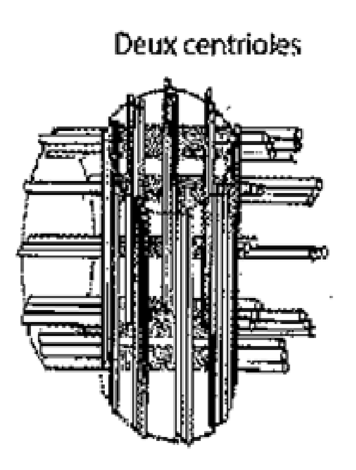
Structure de la paroi du centriole

(page 18)

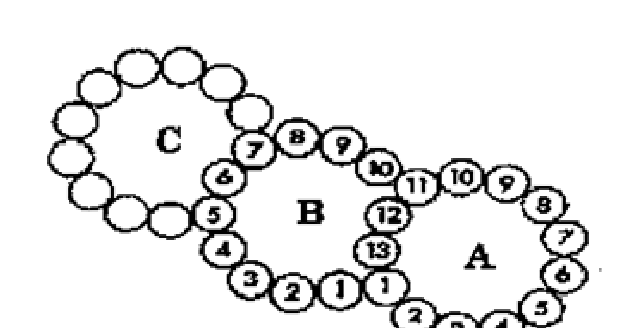
Un centriole est un cylindre creux de longueur et diamètre stables . Sa paroi est composé de 9 Triplets de MT : A,B,C

MT A complet : 13 protofilaments

MT B, MT C } Incomplets : 10 protofilaments

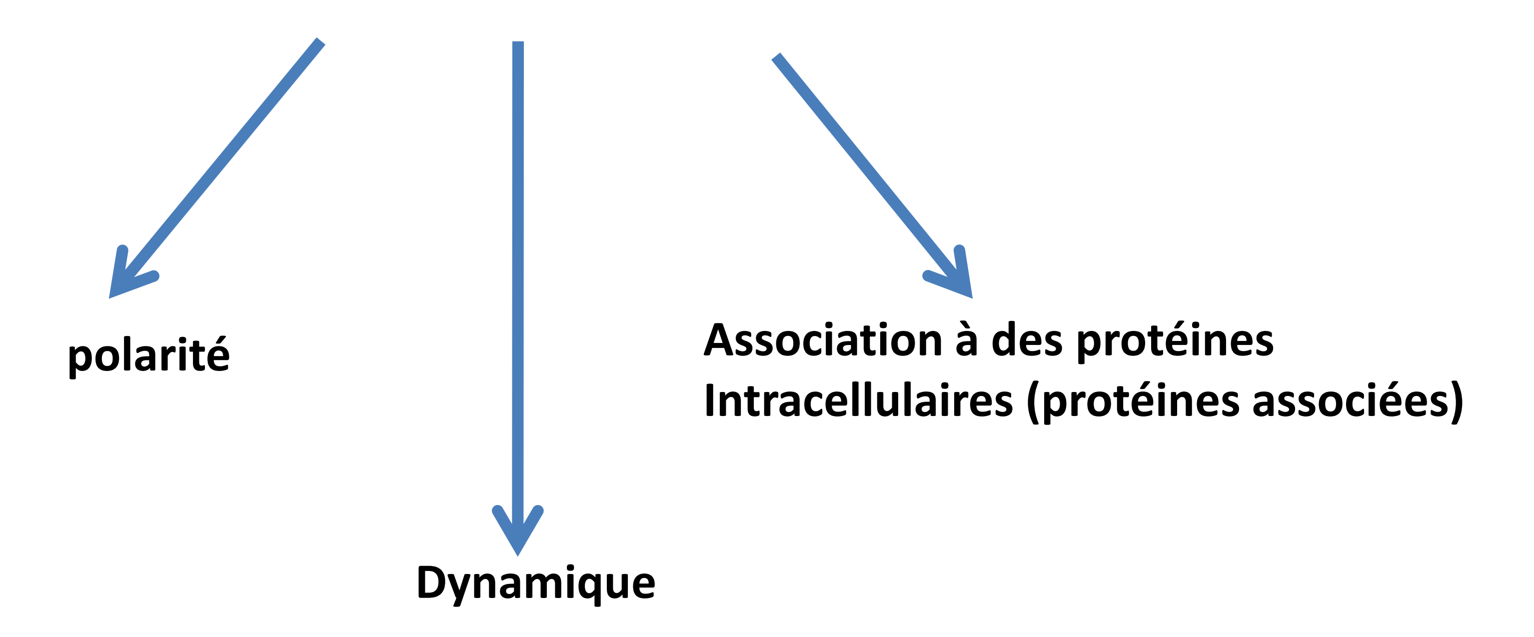


0.5 µ de longueur
0.25 µ de φ



Les triplets de MT sont désignés de l'intérieur vers l'extérieur par les lettres A, B , C

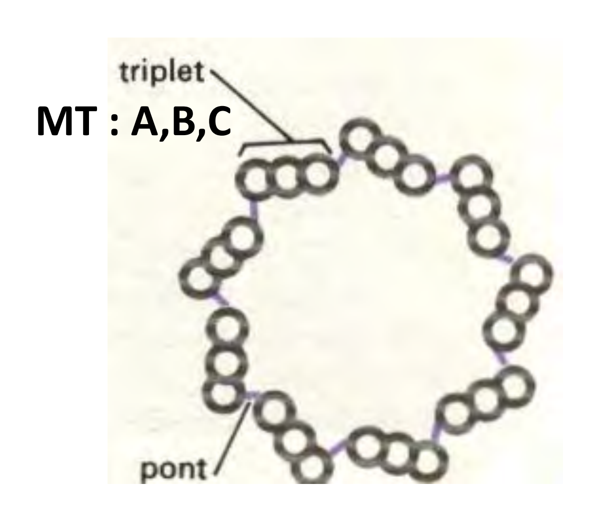
Propriétés du centriole



Structure de la paroi du centriole

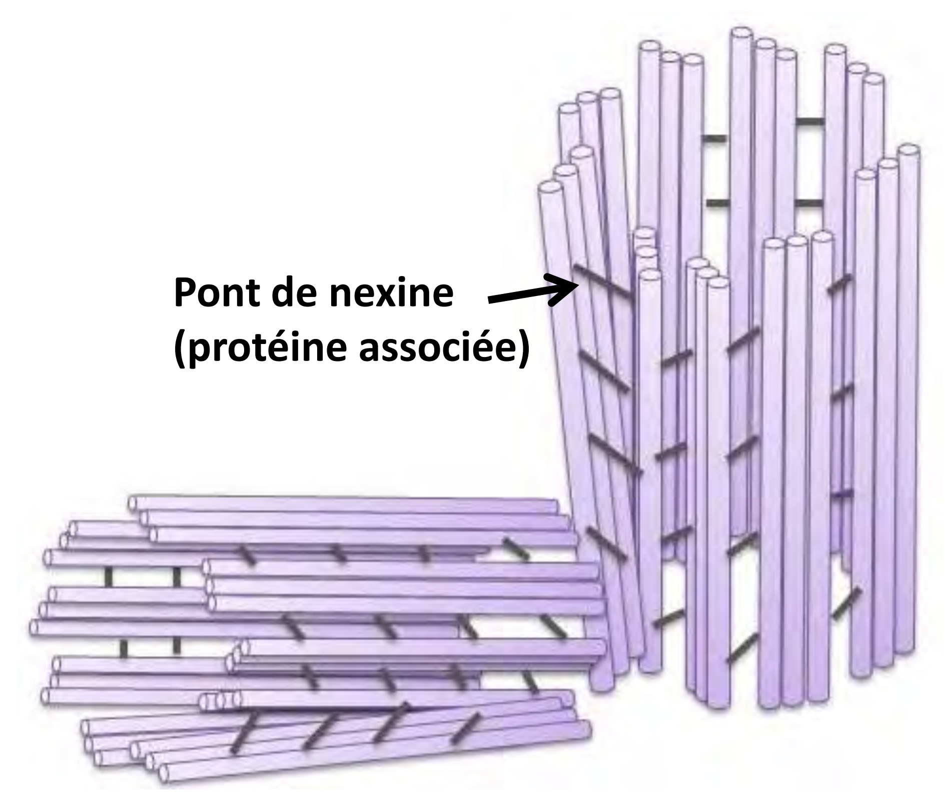
Les 9 triplets de MT sont liés par une protéine associée aux MT stables des centrioles : la néxine

MT : A,B,C



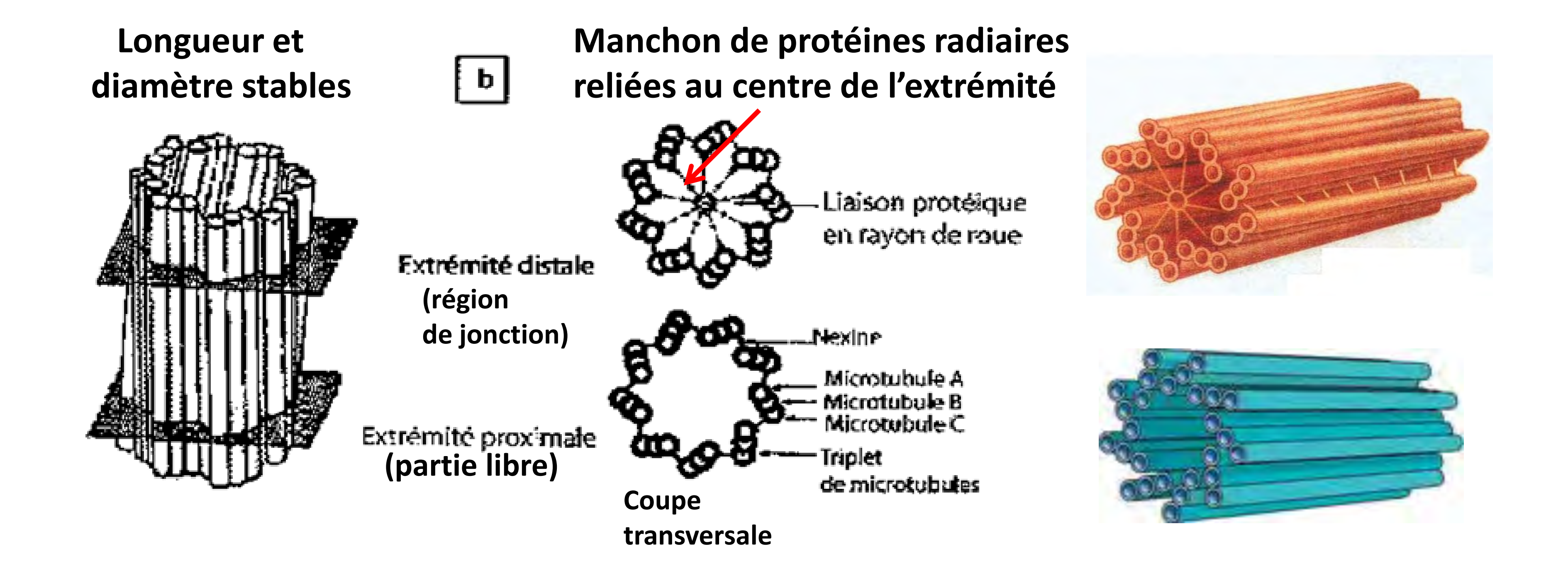
Centriole en coupe transversale

Pont de nexine (protéine associée)



Les 9 triplets de MT périphériques sont inclinés par rapport à l'axe

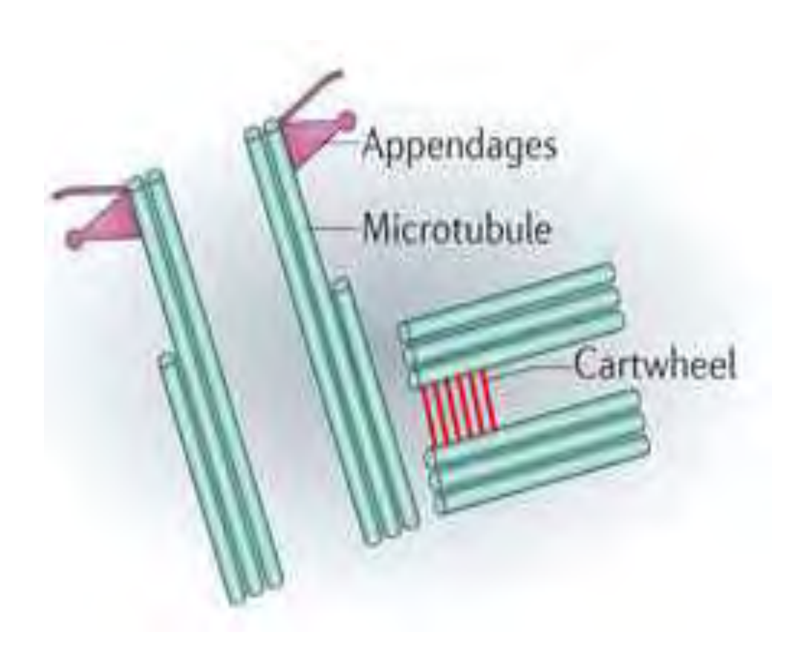
Ultrastructure du centriole , sa polarité et ses protéines associées

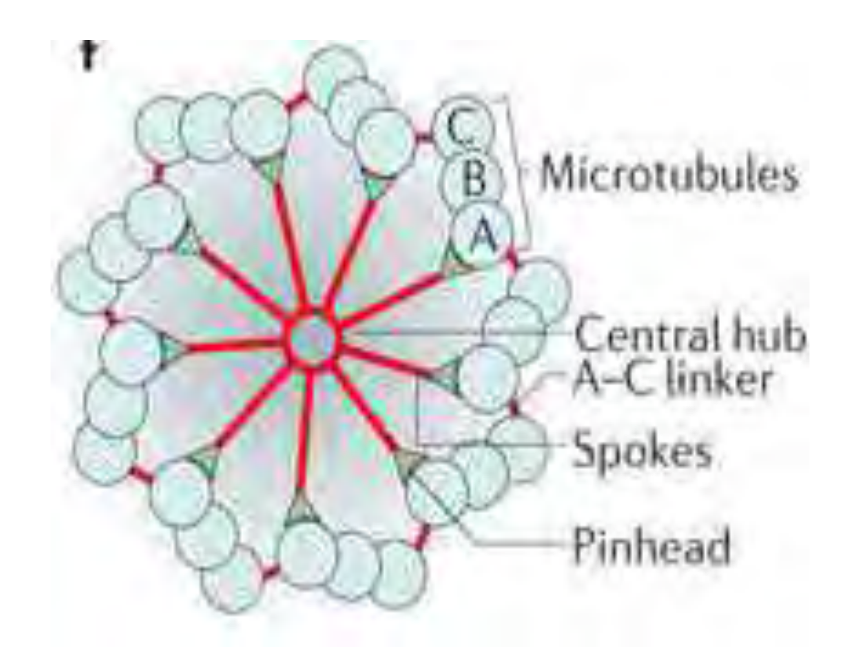


Le centriole présente 2 extrémités, une proximale et l'autre distale à cette dernière extrémité existe une structure protéique en rayon de roue

Dynamique

L’extrémité distale agit comme centre de nucléation lors de la biogenèse des centrioles et au cours de sa duplication



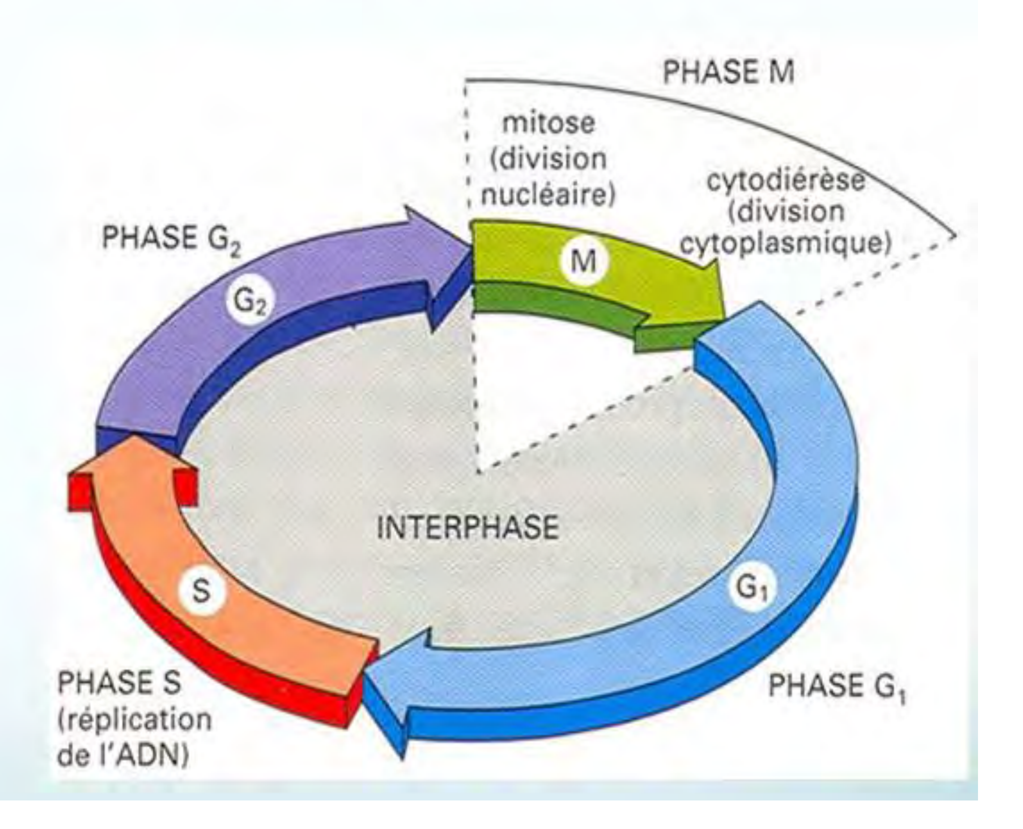


Biogénèse du centriole

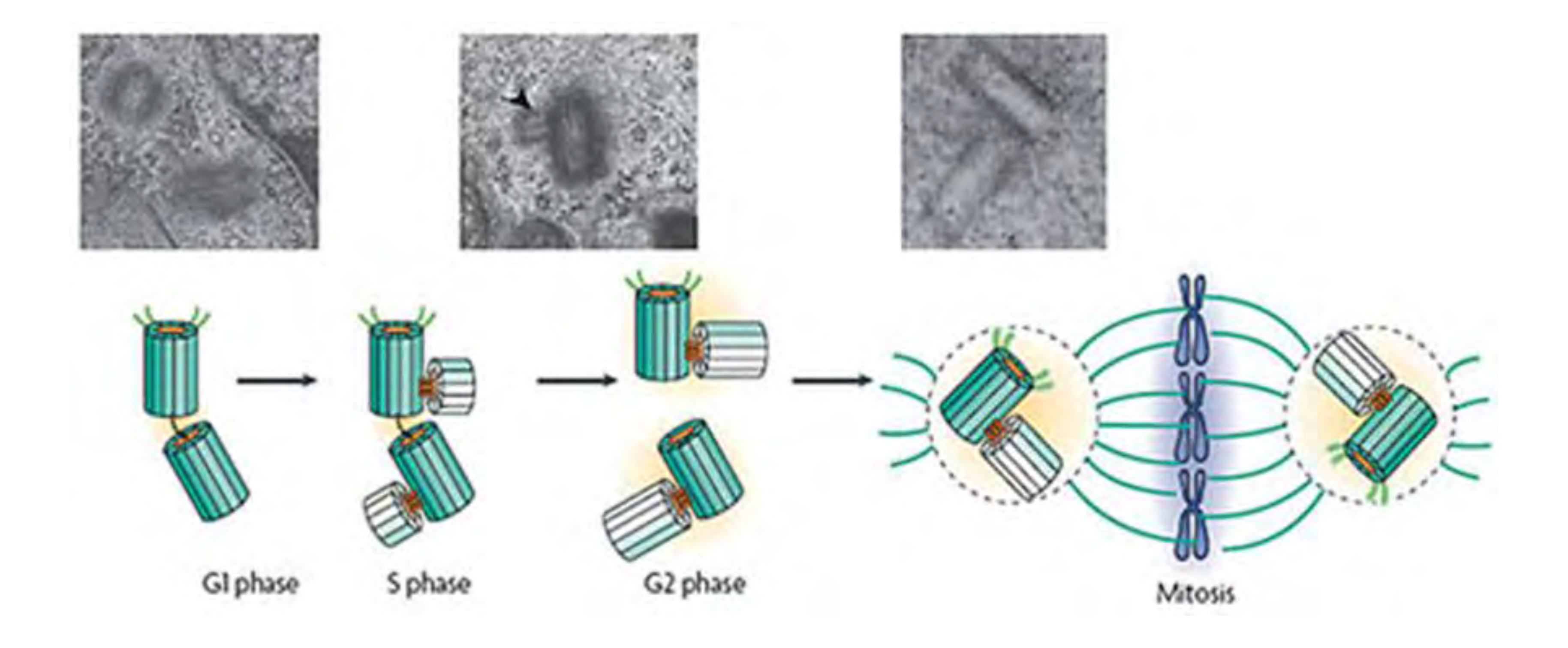
Rappel

Phases du cycle

- 2 périodes
- Phase M : mitose
- Interphase
  - G1
  - S
  - G2
- Durée variable ++
- G1 longue : G0



Duplication des centrioles en phase S et G2 et leur mise en place aux pôles de la cellule en division



Suite à la duplication des centrioles, les cellules mitotiques portent 2 centrosomes , ces derniers sont à l'origine de la formation du fuseau achromatique.

Etapes de formation du centriole

Nucléation (en phase G1)

formation du dispositif en rayons de roue (axe centrale et 9 lames rayonnantes reliées à leur périphérie.

Duplication et maturation (en phase S)

Formation des tubules A sur le dispositif en rayons de roue.
Formation des tubules B ensuite tubules C
Formation des ponts de nexine entre tubules A et tubules C des triplets voisins.
Ce dispositif de petite taille constitue le procentriole .

Elongation (en phase S)

Allongement du procentriole jusqu'à la longueur définitive du centriole

Séparation des centrosomes

une matrice de MAPs entoure chaque paires de centrioles (en phase G2)

Etapes de formation du centriole

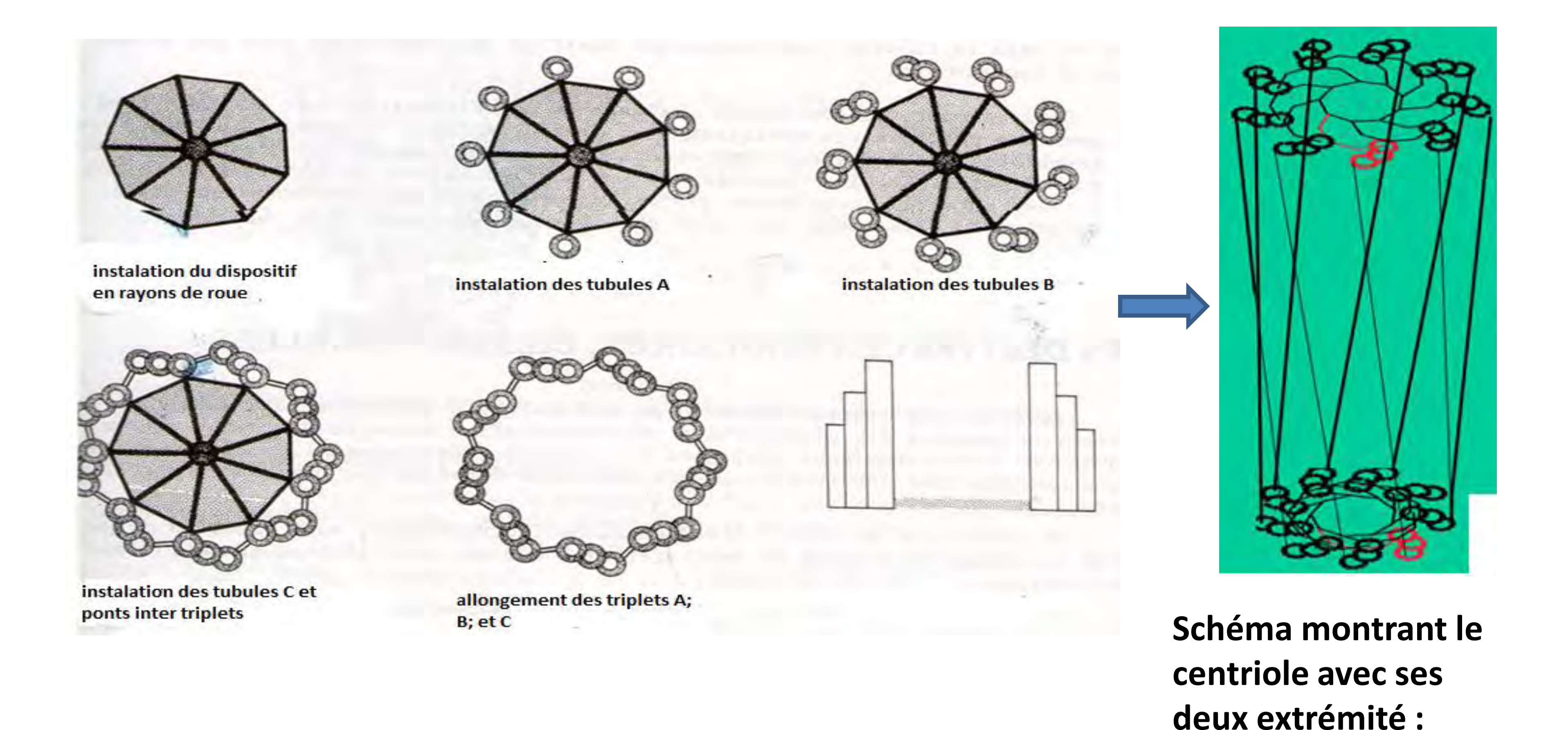
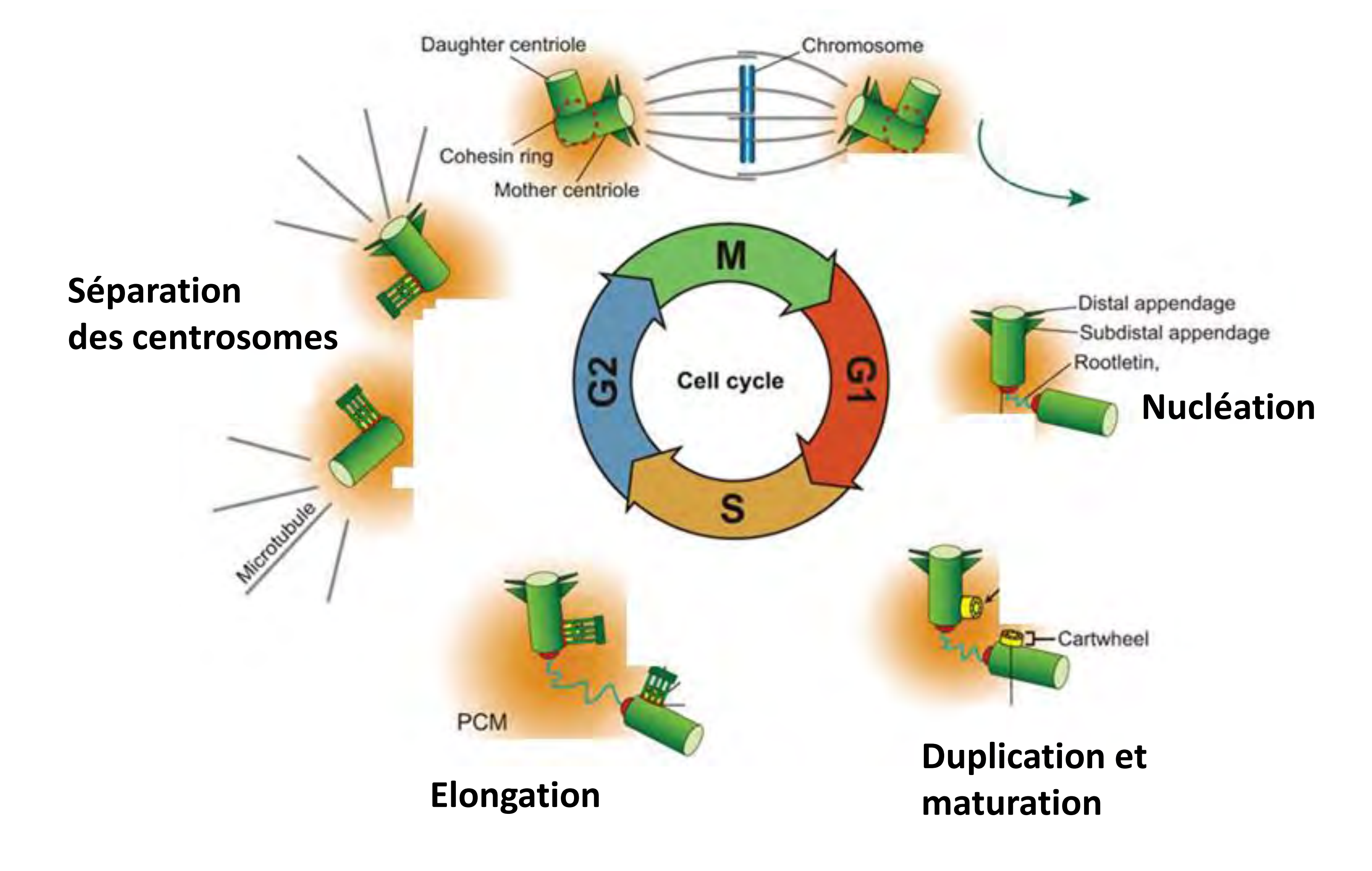


Schéma montrant le centriole avec ses deux extrémité : proximale et distale

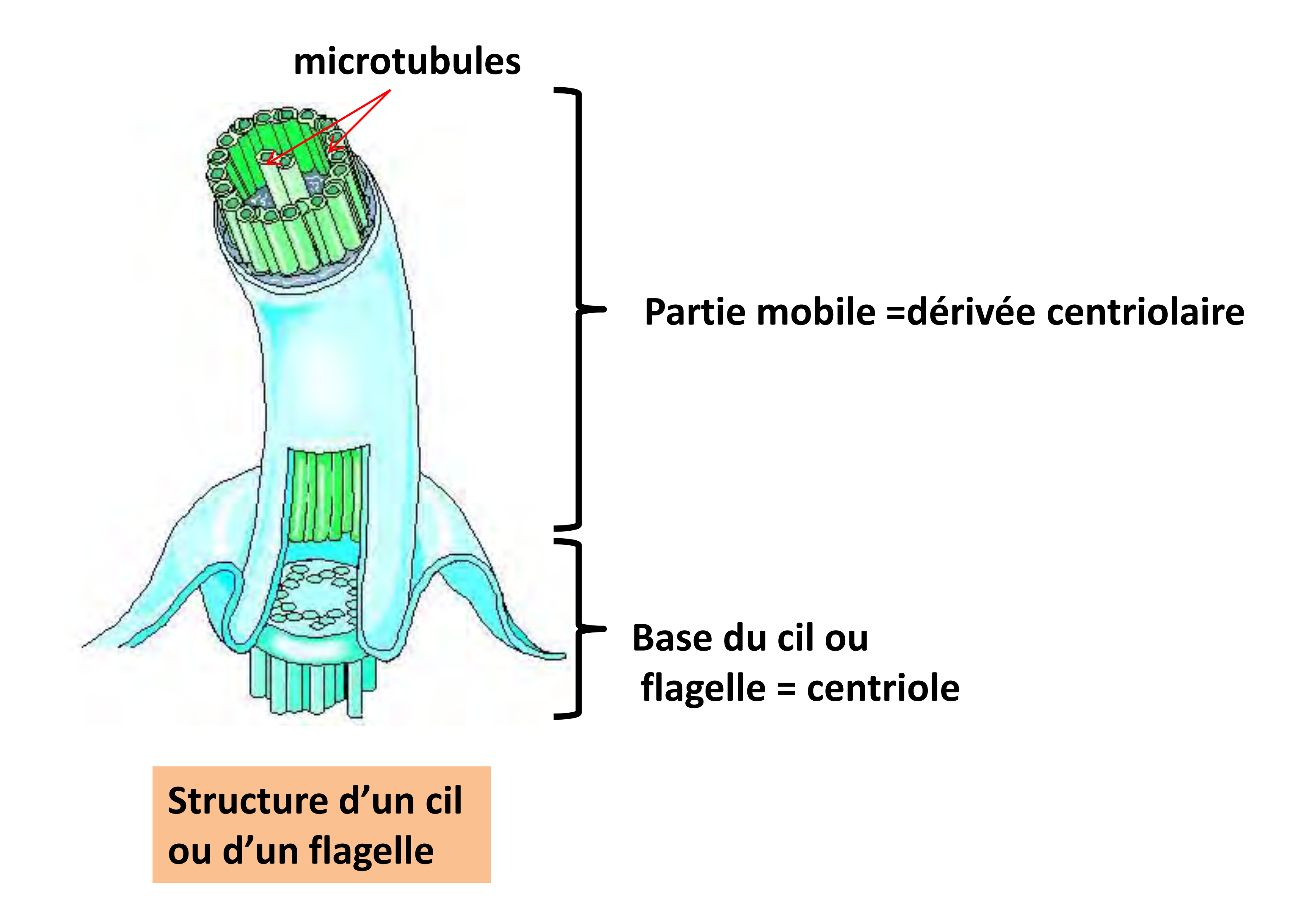
La duplication des centrioles s'achève à la fin de la phase G2 par l'individualisation de deux centrosomes



Rôles du centriole dans la cellule

- **Duplication des centrioles préexistants**
- **Elongation en cil ou en flagelle**

Les cils et flagelles représentent des dérivés centriolaires



Structure d'un cil ou d'un flagelle